

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Seroprevalencia de Toxoplasma gondii en vicuñas de la
Reserva Nacional de Pampa Galeras-Proyecto San
Cristóbal y alrededores**

TESIS

para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Mijail Heckla Zuzunaga Dávalos

Lima - Perú

2006

CONTENIDO

	Pag.
Lista de Cuadros.....	iv
Resumen.....	v
Abstract.....	vi
I. Introducción.....	1
II Revisión Bibliográfica.....	3
2.1. La Vicuña (<i>Vicugna vicugna</i>)	3
2.1.1. Características Morfológicas.....	4
2.1.2. Sub especies.....	4
2.1.3. Población y Hábitat.....	4
2.1.4. Comportamiento Social.....	5
a. Grupo familiar polígamo.....	5
b. Las tropillas juveniles.....	6
c. Los individuos solitarios o no diferenciados.....	6
2.1.5. Empadre y Reproducción.....	7
2.1.6. Manejo e importancia de la vicuña.....	7
2.2. Toxoplasmosis.....	9
2.2.1. Clasificación Taxonómica.....	10
2.2.2. Estadios de desarrollo.....	10
a. Trofozoíto o taquizoíto.....	10
b. Cistozoíto o bradizoíto.....	11
c. Ooquiste.....	11
2.2.3. Ciclo Biológico.....	11
a. Fase sexual o esporogónica o enteroepitelial.....	12
b. Fase asexual o esquizogónica o extraintestinal.....	13
2.2.4. Epidemiología de la toxoplasmosis en:.....	13
2.2.4.1. Ovinos y caprinos.....	13
2.2.4.2. Porcinos.....	14
2.2.4.3. Bovinos.....	15
2.2.4.4. Camélidos sudamericanos.....	15
2.2.4.5. Equinos.....	16
2.2.4.6. Caninos	16
2.2.4.7. Felinos	17
2.2.4.8. Aves.....	18
2.2.4.9. Animales silvestres.....	19
2.2.4.10. Humanos.....	20
2.2.5. Patogenia.....	21
2.2.6. Signos clínicos y lesiones en:.....	23
2.2.6.1. Ovinos y caprinos.....	23
2.2.6.2. Porcinos.....	24
2.2.6.3. Caninos.....	24
2.2.6.4. Felinos.....	25
2.2.6.5. Humanos.....	25
a. Toxoplasmosis aguda.....	25
b. Toxoplasmosis ganglionar o linfática.....	25
c. Toxoplasmosis ocular.....	26
d. Toxoplasmosis congénita.....	26
e. Toxoplasmosis en pacientes inmunocomprometidos.....	27
2.2.7. Inmunidad.....	27
2.2.7.1. Humoral.....	27
2.2.7.2. Celular.....	27
2.2.8. Diagnóstico.....	29

2.2.8.1. Diagnóstico clínico y lesional.....	29
2.2.8.2. Diagnóstico serológico.....	29
a. Prueba de Sabin y Feldman o Dye Test.....	29
b. Prueba de Aglutinación en Látex.....	29
c. Prueba de Hemaglutinación Indirecta (HAI).....	30
d. Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).....	30
e. Ensayo Inmunoenzimático Ligado a Enzimas (ELISA).....	30
2.2.8.3. Diagnóstico no Serológico.....	31
a. Examen Fecal.....	31
b. Aislamiento del parásito.....	31
c. Inmunohistoquímica.....	31
d. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	32
2.2.9. Prevención y Control.....	32
a. En el hospedero definitivo.....	32
b. En el hospedero intermediario.....	33
2.2.10. Tratamiento.....	34
2.2.11. Inmunoprofilaxis.....	34
III. Materiales y Métodos.....	36
3.1. Lugar de estudio.....	36
3.2. Animales.....	36
3.3. Tamaño muestral.....	37
3.4. Materiales.....	39
3.4.1. Materiales para la colección de muestras.....	39
3.4.2. Materiales para la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta.....	39
3.5. Toma de muestra.....	40
3.6. Procesamiento de las muestras.....	40
3.6.1. Fijación de antígeno.....	41
3.6.2. Procedimiento.....	41
3.7. Interpretación de resultados.....	42
3.8. Análisis de datos.....	42
3.8.1. Prevalencia (P).....	42
3.8.2. Intervalo de confianza (IC).....	43
IV. Resultados y Discusión.....	44
V. Conclusiones y Recomendaciones.....	49
VI. Referencia Bibliográfica.....	50

LISTA DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Población total y tamaño muestral de vicuñas, de la Reserva Nacional de Pampa Galeras-Proyecto San Cristóbal y alrededores, según sexo. 2003.	38
Cuadro 2. Población total y tamaño muestral de vicuñas, de la Reserva Nacional de Pampa Galeras-Proyecto San Cristóbal y alrededores, según grupo etáreo. 2003	39
Cuadro 3. Seroprevalencia de <i>T. gondii</i> en vicuñas, de la Reserva Nacional de Pampa Galeras-Proyecto San Cristóbal y alrededores, según sexo. 2003.	48
Cuadro 4. Seroprevalencia de <i>T. gondii</i> en vicuñas, de la Reserva Nacional de Pampa Galeras-Proyecto San Cristóbal y alrededores, según grupo etáreo. 2003.	48

RESUMEN

El *Toxoplasma gondii* es un protozoo, que tiene como hospedero definitivo a los felinos y como hospederos intermediarios, a un amplio rango de hospederos entre ovinos, caprinos, porcinos, aves y humanos. Este protozoo, presenta una distribución mundial y es causante de problemas reproductivos en el ganado, principalmente el ovino. Su importancia radica en la implicancia zoonótica. Los estudios realizados en camélidos sudamericanos silvestres como la vicuña son escasos, sobre todo aquellos dirigidos a determinar los problemas de tipos reproductivos y epidemiológicos. El objetivo del presente estudio fue estimar la seroprevalencia de *T. gondii* en vicuñas de la Reserva Nacional de Pampa Galeras, en el Departamento de Ayacucho, para lo cual se muestrearon 191 vicuñas, entre machos y hembras, a las cuales se les realizó la prueba de Inmunofluorescencia indirecta. La seroprevalencia obtenida fue de 5.8 ± 3.3 %, no observándose diferencias estadísticas significativas en los resultados, al evaluar las variables sexo y grupo etáreo relacionados a los reactores a la prueba serológica. El presente estudio demuestra la infección por *T. gondii* en vicuñas de la Reserva Nacional de Pampa Galeras-Proyecto San Cristóbal y Aledaños.

Palabras clave: Toxoplasmosis, CSA silvestre, serología, anticuerpos, Ayacucho.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is a protozoan parasite, which definitive host is the feline and has a wide range of species like sheep, goats, pigs, birds and humans as intermediate hosts. This protozoan is worldwide distributed and causes reproductive problems in cattle, specially sheep. Its importance takes root in its zoonótica implication. Studies performed in wild South American camelids like the vicunas are scarce, specially those directed to determine reproductive and epidemiological problems. The objective of this study was to determine the Seroprevalence of *T. gondii* in vicunas of the National Reserve of Pampa Galeras in the department of Ayacucho. Therefore, 191 serum of vicunas were evaluated, male and female, by using the immunofluorescent antibody test (IFAT). The Seroprevalence obtained was 5.8 % +/- 3.3. Significant statistical differences were not observed in the results, comparing the variables age and sex. The present study demonstrates that infection of *T. gondii* in vicunas of the National Reserve of Pampa Galeras occurred.

Key words: Toxoplasmosis, wild SC , serology, antibodies, Ayacucho.

I. INTRODUCCIÓN

La vicuña al igual que el guanaco constituyen dos especies de Camélidos Sudamericanos (CSA) que aun permanecen en estado silvestre. En los últimos años, el valor productivo de la vicuña ha adquirido vital importancia, debido a la finura de su fibra, de elevada cotización en el mercado internacional. Sin embargo, los estudios epidemiológicos realizados en vicuñas, referidos a problemas de tipo infeccioso y parasitario, que ocasionarían alteraciones de tipo reproductivo y deficiencias en la natalidad, son escasos.

El *Toxoplasma gondii*, es un protozoo, perteneciente al Phylum Apicomplexa, que tiene como hospedero definitivo al felino (doméstico o silvestre) y como hospedero intermediario a un amplio rango de especies (ovino, caprino, bovino, porcino, equino, felinos, aves y humanos, entre otros) representa gran importancia, a nivel mundial, no sólo por causar problemas de tipo reproductivo en el ganado, ovino y caprino (en quienes causa abortos, fetos momificados, mortinatos, y nacimientos de crías débiles); sino también, por ser una enfermedad zoonótica con grave implicancia en la salud, tanto de niños, como de adultos, con un sistema inmunológico comprometido (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003; García et al, 2003).

Los estudios realizados en vicuñas de nuestro país son escasos, habiéndose reportado en el 2003 una prevalencia a *T. gondii* de 14.9% en vicuñas de Puno (Pastor et al., 2003). Sin embargo, no se tienen más reporte sobre la distribución de este agente en vicuñas de otros lugares de nuestro país. Asimismo, se han realizado estudios de prevalencia de este parásito en CSA domésticos, reportándose prevalencias en alpacas, que varían desde el 21% al 53% (Poma, 2003; Gómez et al., 2003) y en llamas, prevalencias que varían desde el 10% al 32% (Saravia et al., 2004; Gómez et al., 2003); siendo necesario determinar su presentación en vicuñas.

El objetivo del presente estudio fue estimar la seroprevalencia de *T. gondii* en vicuñas, procedentes de la Reserva Nacional de Pampa Galeras, en el Departamento de Ayacucho.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. La vicuña (*Vicugna vicugna*)

La vicuña, es una de las cuatro especies de Camélidos Sudamericanos que habitan en nuestro país; permaneciendo ésta en estado silvestre al igual que el guanaco (Zuñiga, 1998). Es uno de los animales más importantes de la fauna silvestre en los andes sudamericanos, por constituir un gran potencial en la explotación de su fibra, la cual es la más fina y exótica en el mundo, siendo su diámetro promedio de $12.52 \pm 1.52 \mu\text{m}$ (Carpio y Solari, 1982), cotizándose en más de 500 dólares el kilo; asimismo, el consumo de su carne es de alto valor nutritivo (Zúñiga, 1998). Además, la vicuña tiene una estampa fina, grácil, hermosa y un hábito delicado de pastoreo en zonas totalmente marginales, convirtiéndose en un conservador de la pradera.

Las vicuñas constituyen animales silvestres ecológicamente importantes y socialmente trascendentes, ya que económicamente siempre han sido de interés del hombre altoandino para la obtención de su valiosa fibra (Hoces, 1998), convirtiéndose en una alternativa económica inmediata para las comunidades campesinas marginales de la puna peruana (Hoces, 1998; Zúñiga, 1998). Entre los años 1994 y 2001 se ha comercializado internacionalmente un total de 14,043

Kg. de fibra pre-decerdada, correspondiente a las campañas de captura y esquila desde 1993 hasta el 2000, fluctuando la valorización base del Kg de fibra entre 300 y 500 dólares americanos (CONACS, 2005).

El sistema de comercialización de los productos con fibra de vicuña (telas y confecciones), por tratarse de una especie silvestre protegida, no es abierto y se realiza con supervisión del Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos (CONACS), al amparo de la ley 26496 y su reglamento bajo las pautas y acuerdos del convenio andino de la vicuña (integrado por Perú, Argentina, Bolivia, Chile y Ecuador) y las resoluciones de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES).

2.1.1. Características morfológicas

La vicuña tiene largos y sedosos mechones de color blanco sucio que le cuelgan del pecho y que le sirven para protegerse del frío cuando se echa. El cuello, lomo y los lados son de color café claro; el vientre y el interior de los muslos son de color blanco. La vicuña adulta mide de 1.15 a 1.30 m. de alzada a la cabeza; la alzada a la cruz es de 0.87 a 0.90 m. La cabeza es pequeña con orejas y ojos prominentes; el labio superior posee una hendidura central. El cuello es largo y el cuerpo es muy estilizado, pesando entre 40 a 50 Kg. (Torres, 1992).. Las crías nacen con pesos que varían entre 4 a 6 Kg.

2.1.2. Subespecies

Se han descrito dos subespecies geográficamente diferentes. La primera, *Vicugna vicugna* (de mayor tamaño y color más claro), se encuentra a 18º latitud sur, es más grande y de color más claro que la *Vicugna vicugna mensalis*, que se encuentra más al norte (Brenes *et al.*, 2001).

2.1.3. Población y Hábitat

La población mundial de vicuñas se estima en más de 200 000 animales de los que 143 526 se encuentran en Perú (CONACS, 2000) y se encuentra

distribuida en 5 países sudamericanos. La mayor concentración de vicuñas está en el Perú, donde habita el 61% de la población mundial. En segundo lugar está Chile con 17%, seguido de cerca por Argentina con 14% (Brenes *et al.*, 2001).

El hábitat de los camélidos andinos está constituido principalmente por las formaciones ecológicas de Puna y Altos Andes, oscilando su altitud entre los 3,800 y 4,500 msnm; siendo su temperatura promedio entre 6°C y 8°C y su nivel de precipitación entre 400mm y 700 mm; prefiriendo la vicuña las praderas altas (Brenes *et al.*, 2001). En nuestro país, el extremo norte de su distribución se localiza alrededor de los 09° 50' S, en el Parque Nacional Huascarán. Por el extremo sur las poblaciones se distribuyen hasta los límites de la frontera con Bolivia y Chile, en los departamentos de Puno y Tacna en los 18° 00' S (Hoces, 1992).

La vicuña es casi exclusivamente pastoreadora, prefiriendo territorios con asociaciones dominadas por *Calamagrostis* y *Festuca*; asimismo, no poseen la capacidad de subsistir a base de líquido vegetal, a diferencia del guanaco por lo que escogen plantas suculentas (Koford, 1957 citado en Wheeler, 1991).

2.1.4. Comportamiento social

Las vicuñas no muestran dimorfismo sexual, por lo que su identificación en el campo no sería posible de no existir diferencias de conducta según el sexo. Dichas características originan agrupaciones de individuos, claramente diferenciables: el grupo familiar polígamo, la tropilla de machos y los individuos solitarios.

- a. **Grupo familiar polígamo:** está constituido generalmente por un macho y las hembras que pueden ser de 1 hasta 16 (promedio general 5 hembras por grupo familiar) y las crías, las que permanecen hasta los 9 meses de vida en estos grupos, pasado este tiempo son expulsadas para que éstas conformen posteriormente sus propios grupos familiares (Zúñiga, 1998). El macho dirige a

su familia, se mantiene algunos metros alejado de las hembras y siempre está más alerta. En caso de acechar algún peligro, emite silbidos de alarma, que repiten también las hembras y se interpone entre el peligro y ellas mientras se retiran. El territorio familiar puede tener una superficie de 8 y 40 hectáreas (INRENA, 1994).

- b. **Las tropillas juveniles:** están conformadas por machos adolescentes de 9 hasta 18 meses de edad que aún no han alcanzado la madurez sexual. Reunidos llegan hasta 200 individuos dependiendo esto de la población existente. No cuentan con un líder, moviéndose sin rumbo fijo dentro el hábitat hasta encontrar un jefe de familia senil al cual desplazan en lucha y ocupan su lugar; casi todos son de tamaño uniforme y permanecen en las tropillas por dos o tres años (Zúñiga, 1998).
- c. **Los individuos solitarios o no diferenciados:** es el tercer grupo social que tiene las poblaciones de vicuñas. Sus integrantes pueden ser juveniles, adultos machos o hembras, que no se han incorporado a los grupos mencionados. Estos animales vagan sin tener un territorio determinado, en algunos casos se anticipan a las tropillas (INRENA, 1994). También son considerados aquellos que han cumplido su ciclo biológico y por tener una avanzada edad, han sido expulsados de sus grupos familiares y territorios por otros machos más jóvenes (Zúñiga, 1998).

En los “no diferenciados” se incluyen a todos aquellos grupos que por falta de tiempo de observación no pueden reconocerse por comportamiento (INRENA, 1994).

El grupo familiar constituye la organización que asegura la perpetuación de la especie, mientras que la tropilla de machos es la que asegura el vigor de la población. Estas dos agrupaciones involucran en promedio, 96.7% de la población total, o sea el 78.7 % son grupos familiares y 18% son tropillas de machos, el resto

de la población vagabundea en forma dispersa, constituyendo un 3.3 % del total (INRENA, 1994).

2.1.5. Empadre y Reproducción

Por la misma conformación de su estrato social se considera a la vicuña un animal de costumbres polígamas, cuyas hembras llegan a la madurez sexual al año de edad, pero la mayoría tiene su primer empadre a los dos años y su primera cría a los 3 años (Hofmann y Otte, 1983). La gestación dura 11 meses y nace una sola cría que al poco tiempo puede caminar y correr al lado de la madre. La época de parición es entre los meses de febrero y abril coincidiendo con el tiempo de lluvias. El empadre ocurre unas semanas después de la parición (Zúñiga, 1998).

Generalmente se ha podido observar que la parición se produce entre las 7 de la mañana y las 2 de la tarde generalmente en días soleados. Esto se debe a que la vicuña no puede lamer a su cría y por lo tanto debe secarse a la intemperie (Zúñiga, 1998).

Al mes de nacido la cría inicia la rumia y a los 6 a 8 meses ocurre el destete, aunque este periodo puede prolongarse hasta los 10 meses (Hofmann y Otte, 1983). Desde antes del destete, las crías tienden a cubrir su demanda de energía en base a alimento vegetal (Hofmann y Otte, 1983).

2.1.6. Manejo e importancia de la vicuña

El Estado Peruano, ha asumido una concepción conservacionista en materia de recursos naturales, viabilizando la participación del sector privado, principalmente de los entes colectivos organizados, a los cuales les fue otorgado este derecho por el decreto legislativo N° 653 y la ley N°. 26496 (CONACS, 2005); promoviéndose así, la organización de aproximadamente 800 comités comunales, para el manejo y aprovechamiento de la vicuña y la participación activa de casi 250 comunidades en la producción de fibras de vicuña, lo que ha permitido la obtención de beneficios económicos con su comercialización (CONACS, 2005).

Reflejado en la conservación y aprovechamiento de los mismos, bajo un criterio que resulte sustentable, la vicuña está sujeta a protección por el estado, desempeñando una función normativa, supervisora y promotora. El recurso vicuña es económicamente explotable, debido al alto valor de su fibra, pudiendo ser un mecanismo de integración a la economía activa del país y del poblador alto andino, a fin de mejorar su nivel de vida a través de su aprovechamiento (INRENA, 1994).

Existen diferentes tipos de manejo en los países con presencia de vicuñas; en el Perú la población de vicuñas es manejada por titulares de manejo, los cuales están constituidos mayoritariamente por comunidades campesinas, que en el año 2002 fueron 219, las que obtuvieron una producción de 5150.18 Kg. de fibra (Esponda *et al.*, 2004).

Desde 1996 se ha implementado el uso de cercos permanentes semicerrados o corrales fijos hechos con malla de alambre de 1.80 m de alto, sujeto a postes de madera de eucalipto, los cuales están distribuidos conformando un perímetro de aproximadamente 12 Km., lo cual abarca una extensión promedio de 1000 Has., con capacidad de albergar hasta 200 a 250 animales, según la capacidad de carga de los pastos (Hoces, 1998). Es un sistema de semicautividad, debido a que el cerco deja algunas entradas estratégicas para el flujo natural de los grupos de vicuñas desde y hacia el cerco y solo se cierra totalmente previa y durante la temporada de esquila u otra acción de manejo (Hoces, 1998).

Existen dos proyectos que son el Proyecto Lucanas-Barbara De A´chille y el Proyecto Vicuña San Cristóbal y Aledañas que se encuentran en la zona de influencia de la Reserva Nacional de Pampa Galeras, que a pesar de mantener sus módulos de uso sustentable, siguen utilizando de manera exitosa el uso de corrales-trampa, los cuales fueron diseñados como módulos móviles que son

desplazados a las áreas de mayor población de vicuñas, en zonas determinadas previamente, como territorios de grupos familiares o tropillas de machos.

Este sistema se caracteriza por un manejo extensivo y libre o propiamente silvestre, en el cual los animales no son sometidos a ningún manejo ni estrés hasta la época de captura y esquila, donde toda vicuña seleccionada debe reunir las siguientes características: tener como mínimo 12 meses (vicuña tui), el largo de la fibra debe tener como mínimo 2.5 cm. y el estado nutricional del animal debe ser bueno (Zúñiga, 1998).

El 15 de Mayo de cada año se inicia la campaña de captura y esquila de vicuñas vivas, a nivel nacional, autorizada por el CONACS a fin de que en las comunidades campesinas se lleve a cabo la producción de fibra, actividad que es conducida por los técnicos del CONACS en los territorios comunales, a manera de supervisión y asistencia técnica de la misma. El término del periodo de captura y esquila es el 15 de noviembre de cada año (CONACS, 2005), donde se suspende la captura para dar paso a la época de clasificación y descordaje de la fibra obtenida, la cual crea un valor agregado y crea nuevas fuentes de trabajo para los comuneros de la zona (Zúñiga, 1998).

Estos proyectos plantean el uso sustentable de la vicuña en beneficio de las comunidades campesinas, que son sus propietarias actualmente, y en cuyos terrenos se encuentran distribuidas y por lo tanto protegidas, ya que permiten poder crear fuentes de trabajo para estas zonas empobrecidas y donde las demás actividades son de supervivencia.

2.2. Toxoplasmosis

En 1908, Nicolle y Manceaux describieron una enfermedad fatal parasitaria, aislando dicho parásito de células mononucleares de bazo e hígado de unos pequeños roedores africanos, denominados gondis (*Ctenodactylus gundi*), en Túnez (citado por Dubey, 1994). En un inicio los autores consideraron que se

trataba de una especie de *Leishmania*, pero un año después, tras mayores estudios crearon el nuevo género que llamaron *Toxoplasma*. Su nombre se debe a su forma arqueada y proviene del griego “toxón”, que significa arco y plasma que significa forma. Desde ese entonces el *T. gondii* ha sido reportado en diversos países y en diversas especies, tanto de manera natural como experimental (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

2.2.1. Clasificación taxonómica

- Reino: Protozoo
- Phylum: Apicomplexa
- Clase: Sporozoa
- Sub clase: Coccidia
- Orden: Eucoccidea
- Sub orden: Eimeria
- Familia: Sarcocistidae
- Género: *Toxoplasma*
- Especie: *T. gondii*

(Soulsby, 1987; Dubey, 1994).

2.2.2. Estadios de desarrollo

Los estadios infecciosos del *T. gondii*, son tres: taquizoítos (localizados en grupos), bradizoítos (localizados en quistes tisulares) y ooquistes (los cuales son eliminados por el hospedero definitivo).

- a. **Trofozoíto o taquizoíto:** estadio de multiplicación rápida en muchas células del hospedero intermediario y en células epiteliales no intestinales del hospedero definitivo. Miden aproximadamente 2 x 6 µm. Ultraestructuralmente los taquizoítos poseen varias organelas y cuerpos de inclusión que incluyen anillos apicales, anillos polares, conoides, roptrias, micronemas, mitocondrias, microtúbulos subpeliculares, retículo endoplásmico, complejo de Golgi,

ribosomas, retículo endoplásmico rugoso y liso, núcleo, gránulos densos, gránulos de amilopectina, entre otros. El núcleo usualmente está situado en la parte central de la célula y contiene gránulos de cromatina, y el nucléolo se encuentra localizado centralmente (Dubey et al., 1998).

- b. **Cistozoíto o bradizoíto:** presente en infecciones congénitas y adquiridas, crónicas o asintomáticas. Se encuentra en quistes tisulares, alojados mayormente en el cerebro, ojo, hígado y musculatura esquelética y cardíaca. Los quistes tisulares varían en tamaño, los quistes jóvenes pueden medir 5 μm . de diámetro y contener sólo dos bradizoítos, a diferencia de uno de mayor edad, que puede contener cientos de bradizoítos. Los quistes tisulares en el cerebro son esferoidales y raramente alcanzan los 70 μm . de diámetro; sin embargo, los quistes intramusculares son elongados y pueden medir 100 μm . de longitud. La pared del quiste tisular es elástica y delgada (mide 0.5 μm .) y encierra cientos de bradizoítos, de los cuales cada uno mide aproximadamente 7 x 1.5 μm . (Dubey et al., 1998).
- c. **Ooquiste:** forma de resistencia en el medio exterior, es excretado con las heces de los gatos sensibles, después de la ingestión de las tres formas infectivas (taquizoíto, bradizoíto, ooquiste). La forma del ooquiste no esporulado (excretado por el hospedero definitivo) varía de subesférico a esférico y mide 10 x 12 μm . de diámetro. La esporulación se da al cabo de 1 a 5 días. Por otro lado, la forma del ooquiste esporulado varía de subesférico a elipsoidal y mide 11 x 13 μm . de diámetro. Cada ooquiste contiene dos esporoquistes elipsoidales, los cuales miden 6 x 8 μm y cada esporoquiste tiene 4 esporozoítos (Dubey et al., 1998).

2.2.3. Ciclo biológico

El ciclo biológico del *T. gondii* se divide en dos partes: un ciclo sexual que ocurre por gametogonia en las células epiteliales del intestino delgado del hospedero definitivo (felinos domésticos y silvestres) y un ciclo asexual que ocurre

en los tejidos extraintestinales de los hospederos intermediarios (animales de sangre caliente, incluido el hombre, aves e incluso los propios felinos).

a. Fase sexual o esporogónica o enteroepitelial

El gato se infecta al ingerir animales (mamíferos y aves) portadores de quistes y en menor grado con taquizoítos o bien vegetales contaminados de ooquistes. Los bradizoítos son liberados de los quistes tisulares, en el estómago e intestino, por acción de las enzimas digestivas que disuelven la pared quística, los bradizoítos penetran en las células epiteliales del intestino delgado e inicia 5 tipos de estadio asexual predeterminado -endodiogenia, endopoligenia, esquizogonia- (Dubey y Lappin, 2000); luego de una fase gametogónica los parásitos se diferencian en microgametos masculinos y femeninos, cuya fecundación da origen a la formación de un ooquiste diploide y no esporulado (no infectivo), que se elimina con las deyecciones al medio ambiente (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003). Millones de ooquistes formados por dos esporoquistes, cada uno de ellos con cuatro esporozoítos son excretados por los gatos, en un tiempo dependiente de la forma infectiva ingerida; siendo este periodo de 3 a 10 días posteriores a la ingestión de quistes (bradizoítos); de 20 a 24 días, posteriores a la ingestión de ooquistes y de 5 a 10 días o más, tras la ingestión de taquizoítos (Acha y Szyfres, 1986; Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003). En el medio exterior, esporulan de uno a cinco días, volviéndose infectivos.

La gran resistencia de la pared del ooquiste, permite al parásito sobrevivir más de un año en el suelo, cuando las condiciones de humedad y temperatura (4-37°C) son favorables. El medio telúrico se convierte entonces en una fuente de contaminación para el hombre y los animales (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

b. Fase asexual o esquizogonia o extraintestinal

La infección del humano y animales (carnívoros, incluidos los felinos, herbívoros y aves) resulta de la ingestión de ooquistes maduros procedentes de las materias fecales del gato o de las formas quísticas presentes en los tejidos de otros animales, cuyas carnes son ingeridas crudas o mal cocidas por los hospederos intermediarios. Tras la ingestión del ooquiste esporulado, los esporozoítos liberados en el lumen del intestino delgado penetran en las células intestinales, dividiéndose en dos por un proceso asexual conocido como endodiogenia y se convierten en taquizoítos (en estos casos existe inicialmente una infección aguda), que son llevados por la corriente sanguínea y linfática, invadiendo los diversos tejidos, diseminándose el parásito por todo el organismo. La parasitemia afecta a cualquier órgano o tejido y los taquizoítos se multiplican en cualquier célula hospedera, sea o no fagocítica (Luzón y Quintanilla-Gozalo, 1997). Cuando el hospedero desarrolla inmunidad, la infección se hace crónica y se forman los verdaderos quistes con los bradizoítos (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

2.2.4. Epidemiología

El *T. gondii* ha sido reportado en diversas áreas zoogeográficas, teniendo una amplia distribución de hospederos (unas 200 especies de mamíferos aproximadamente y especies de aves) y está condicionada a factores ambientales y costumbres culturales del hombre (Acha y Szyfres, 1986).

2.2.4.1. Toxoplasmosis en ovinos y caprinos

Desde el punto de vista de salud pública y económico, el ovino, es la especie de mayor interés en la toxoplasmosis, ya que se ha reportado su presencia en diversos países, que tienen una industria ovina desarrollada, como Nueva Zelanda, Australia, en donde se ha estimado entre 5-50% de pérdidas de corderos debidas a la toxoplasmosis (Hartley y Marshall, 1967), así también Gran Bretaña, Dinamarca, Suecia, Noruega, URSS, Turquía, Estados Unidos, entre otros (Acha y Szyfres, 1986).

En 1998, en Noruega, se reportó una prevalencia de 16.2% (Skjerve *et al.*, 1998); así también en Italia, entre los años 1999 y 2002, se realizó un estudio, recolectándose muestras de suero y de fetos, encontrándose prevalencias a anticuerpos Ig M del 28.4% y a Ig G del 9% en el suero y del 11.1% en los fetos (Masala *et al.*, 2003).

En Sudamérica se han realizado estudios en ovinos de diversos países, entre ellos Brasil (Sao Paulo), donde se reportó una prevalencia de 34.7% (Figliuolo *et al.*, 2004), así también en Chile, se encontró una prevalencia de 28% empleando la técnica de inmunofluorescencia indirecta (Gorman *et al.*, 1999).

Estudios de seroprevalencia del *T. gondii*, en nuestro país reportan prevalencias en ovinos, del 39% y 85% (Rojas, 1990; Caldas, 2005); mientras que en caprinos se reportan prevalencias del 57.9% (Vidal, 1999).

Por otro lado, siendo el aborto la manifestación clínica más frecuente de esta enfermedad, se sugiere que la placenta y el feto son los tejidos más vulnerables (Blood y Radostits, 1992). La presentación de estos episodios causan grandes pérdidas económicas y representan un riesgo de salud pública en ganaderos y veterinarios, es así que estudios realizados en fetos abortados en España, reportaron prevalencias de 23.1% (Pereira-Bueno *et al.*, 2004).

2.2.4.2. Toxoplasmosis en porcinos

En porcinos, la forma subclínica de la toxoplasmosis, es la más común; sin embargo, se han descrito varios brotes de toxoplasmosis adquirida en lechones. Tanto la carne de porcinos, como la de ovinos son a menudo la fuente de infección para el hombre, radicando aquí la importancia de su infección (Acha y Szyfres, 1986).

La prevalencia serológica de *T. gondii* varía en diversas partes del mundo; es así que en un estudio realizado en el 2002 en Estados Unidos, se reportó la presencia del *T. gondii* en 51 de 55 cerdos destinados al consumo humano (Dubey et al., 2002); por otro lado, recientemente en el 2004 un estudio realizado en Perú y Estados Unidos, encontró una seroprevalencia de 27.7% y 16.4% respectivamente, demostrando al cerdo como una importante fuente de infección en humanos (Saavedra y Ortega, 2004).

2.2.4.3. Toxoplasmosis en bovinos

En bovinos, la toxoplasmosis sintomática es poco frecuente, siendo considerado un hospedero intermediario resistente. En evaluaciones experimentales y en brotes naturales, los animales presentan síntomas como fiebre, disnea, dorso hundido, depresión, temblores en la cabeza y cuello, ataxia, irritabilidad y otros signos nerviosos (Acha y Szyfres, 1986). La toxoplasmosis desempeña al parecer un papel insignificante en el aborto bovino; sin embargo, se han reportado casos de aislamiento del parásito en fetos bovinos en Portugal y Estados Unidos (Canada et al., 2002).

2.2.4.4. Toxoplasmosis en camélidos sudamericanos

Existen pocos estudios en CSA, ya que aún no se conoce la verdadera implicancia de este parásito en esta especie. Es así que los primeros estudios datan de 1987 donde se reporta la presencia de alpacas hembras serorreactoras al *T. gondii* (Leguía et al., 1987).

Los estudios realizados en diversas zonas y especies, reportan prevalencias en alpacas de Junín del 21% (Poma, 2003), en alpacas de Puno del 50%, 24%, 53% y 47.5% (Leguía et al., 1987; Góngora, 1992; Gómez et al., 2003; Marcas et al., 2004), en alpacas de Cuzco del 34.5% y 35.7% (Suárez et al., 2004; Ramírez, 2005) y en alpacas de Chile, una prevalencia de 16.3% (Gorman et al., 1999). Así mismo, estudios realizados en llamas reportan prevalencias de 32% y

10.2% (Gómez et al., 2003; Saravia et al., 2004) y en vicuñas de 14.9% (Pastor et al., 2003).

2.2.4.5. Toxoplasmosis en equinos

En equinos la infección asintomática es común, pero la enfermedad sólo ocurre de modo ocasional. Se han descrito casos de mieloencefalomalacia atribuidos al *T. gondii*, pero su identificación está en duda. Un estudio serológico realizado en equinos de Corea, reportó una baja prevalencia de 2.6% (Gupta et al., 2002); así también en Estados Unidos, se reportó una baja prevalencia al encontrarse tan sólo un positivo al *T. gondii*, de 276 equinos muestreados (Dubey et al., 2003).

A pesar de las seroprevalencias anteriormente mencionadas, son raros los casos de enfermedad clínica en equinos, atribuibles a *T. gondii*; describiéndose varios casos de mielomalacia atribuidos al *T. gondii*, sobre la base de su característica morfológica, quedando en duda su identificación (Acha y Szyfres, 1986)

2.2.4.6. Toxoplasmosis en caninos

En perros la tasa de seropositivos es elevada (Acha y Szyfres, 1986). La toxoplasmosis sintomática ocurre sobretodo en cachorros, en quienes la resistencia es disminuida ante presentaciones con el virus del moquillo canino u otras causas (Acha y Szyfres, 1986).

Un estudio retrospectivo realizado en 15 perros de Nueva Zelanda, con signos de mieloencefalitis, reportó la presencia del *T. gondii* en dos de ellos, mediante una prueba inmunohistoquímica (Patitucci et al., 1997). Por otro lado recientes estudios serológicos reportan de moderada a elevada prevalencia; es así que Wanha et al. (2005) en Australia, reportan una prevalencia del 26% y Azevedo et al. (2005) en Brasil, reportan un 45.1%.

2.2.4.7. Toxoplasmosis en felinos

Debido a que el felino desempeña un importante papel en el ciclo del parásito, tanto como hospedero definitivo o intermediario, diversos estudios han sido realizados en felinos domésticos y silvestres.

En cuanto a felinos domésticos, estudios serológicos, muestran prevalencias similares al *T. gondii*, en gatos sanos (61.3%) y en aquellos que padecen de alguna enfermedad viral (63.6%), como el virus de la leucemia felina (FeLV) y el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) (Svobodová *et al.*, 1998). Por otro lado, se han realizado estudios con el fin de determinar el grado de exposición, dependiente del hábitat del hospedero, es así que en España se reportaron prevalencias de 36.9%, 33.3% y 25.5% en gatos vagabundos, de granjas y de casa, respectivamente (Miro *et al.*, 2004).

También, se han realizado estudios en felinos silvestres, reportándose en Argentina, en 73 felinos silvestres (*Oncifelis geoffroyi*, *Felis colocolo* y *Felis eira*) un 59% de reactores serológicos (Pizzi *et al.*, 1978). Otro estudio realizado en el 2001 en félidos silvestres en cautiverio, de Brasil, reportó un 54.6% (472/865) de positivos al *T. gondii*, mediante exámenes serológicos (Ramos Silva *et al.*, 2001). Recientemente, un estudio realizado en América, donde se muestrearon 438 muestras de suero de pumas (*Felis concolor*) y 58 muestras de suero de lince rojo (*Lynx rufus*), reportó una prevalencia a anticuerpos contra *T. gondii* de 22.4% y 51.7%, respectivamente; encontrándose mayores prevalencias en los félidos de mayor edad con relación a los de menor edad (Kikuchi *et al.*, 2004). Estos resultados muestran la elevada persistencia del parásito en esta especie y su diseminación.

Por otro lado, el felino como hospedero intermediario, ante la presentación de toxoplasmosis, presenta diversos signos, ya sea gastrointestinales, pulmonares, hepáticos, oculares y desórdenes nerviosos, siendo recientemente reportado un caso de miocarditis en un gato hembra, de 11 años de edad

(Simpson *et al.*, 2005) y la presentación de un granuloma intracraneal en un gato macho de 8 años de edad (Pfohl y Dewey, 2005), ambos asociados a la infección por *T. gondii*.

En el transcurso de los años, se han realizado diversos estudios experimentales en gatos, con el fin de elucidar las formas de transmisión del parásito, es así que en el 2001 se realizó experimentalmente la infección de hembras gestantes con quistes tisulares del parásito, llegando éstas a eliminar tanto la forma de ooquistes en sus heces, como de taquizoitos en la leche, lo cual pone de manifiesto la vía de transmisión lactogénica del parásito (Powell *et al.*, 2001).

2.2.4.8. Toxoplasmosis en aves

Los estudios realizados en aves, indican su exposición al *T. gondii*; siendo pocas las pérdidas económicas, debidas a la infección; sin embargo, su elevada prevalencia en esta especie, muestra la importancia epidemiológica de las aves como posibles diseminadores de la infección.

Diversos estudios han sido realizados, reportándose prevalencias de 54% en 50 gallinas de Costa Rica, (citado por Ruiz *et al.*, 2005), 14% en gallinas domésticas de Rusia (Beyer y Shevkunova, 1986). Así también, en Australia se ha reportado su prevalencia en aves silvestres, especialmente en la época de verano (Hartley y Dubey, 1991).

Por otro lado, se han realizado estudios experimentales en aves, observándose que las gallinas jóvenes son las susceptibles a sufrir la enfermedad, es así que un estudio realizado en el 2005, infectó oralmente pollitos (*Gallus domesticus*) de 5 días de nacidos con 10^1 , 10^3 ó 10^5 ooquistes de *T. gondii*. Realizando análisis serológicos se detectó la presencia de anticuerpos contra el parásito; asimismo, se observó la presentación de diarrea severa, anorexia y

pérdida de peso, siendo la supervivencia inversamente proporcional al inóculo del parásito (Ruíz *et al.*, 2005).

2.2.4.9. Toxoplasmosis en animales silvestres

La Toxoplasmosis también es común en animales silvestres y en ocasiones la infección humana se atribuye al consumo de carne insuficientemente cocida, proveniente de animales de caza, tales como ciervos (Acha y Szyfres, 1986). Es así que en España, un estudio realizado en conejos silvestres reveló una moderada prevalencia (14.2%); dicho estudio concluyó la importancia del hallazgo de anticuerpos en conejos silvestres (*Oryctolagus cuniculus*), ya que son una fuente de diseminación de la infección por *T. gondii*; debido a que su carne es empleada para el consumo humano, en varias regiones de ese país (Almería *et al.*, 2004). Así también en nuestro país, recientemente se halló una elevada prevalencia de 90.3% al *T. gondii*, en 62 monos (*Cebus apella*), criados en cautiverio en el Parque de las Leyendas; dicho estudio reveló su gran importancia en salud pública, debido a que esta especie es destinada al consumo, como carne, por los pobladores de nuestra amazonia (Muñoz, 2005).

Por otro lado, además de ver la implicancia en salud pública, de animales silvestres infectados por toxoplasmosis, también se corrobora su amplia distribución y la diversidad de especies a las que afecta. Así en Brasil, un estudio en lobos (*Chrysocyon brachyurus*) en cautiverio, reportó una elevada prevalencia del 74.6% (Vitaliano *et al.*, 2004) y en Noruega se reportaron en ciervos silvestres prevalencias al *T. gondii*, que variaron entre el 1% y 33.9% (Vikøren *et al.*, 2004).

Recientemente, se ha identificado la presencia de toxoplasmosis aguda en 3 zorros árticos silvestres (*Alopex lagopus*) de una localidad de Noruega, los cuales fueron encontrados muertos, sin embargo, los análisis inmunohistoquímicos y serológicos, confirmaron su positividad ante *T. gondii* (Sorensen *et al.*, 2005).

En lo que respecta a aves silvestres, diversos estudios serológicos han sido realizados en infecciones naturales de *Columbiforme*, *Passeriformes*, *Psittaciformes*, *Strigiformes*, *Anseriformes*, *Struthioniformes*, *Rheiformes*, *Casuariformes*, *Pelecaniformes*, entre otros; y en infecciones experimentales, en *Columbiformes*, *Passeriformes*, *Strigiformes* y *Falconiformes*, evidenciando la variedad de especies aviares a las cuales el *T. gondii* puede afectar (Dubey, 2002).

2.2.4.10. Toxoplasmosis en humanos

La prevalencia de infección con *T. gondii* en el hombre, a nivel mundial, varía de moderada a elevada, reportándose prevalencias de 27.4% en Dinamarca (Lebech *et al.*, 1995), 10.9% en Noruega (Jenum *et al.*, 1998), 45% en la India (Singh y Pandit, 2004) y un 67.3% en regiones urbanas de París (Jeannel *et al.*, 1988).

Sin embargo, los factores económicos y sociales no tienen relación especial con el parásito, pero los factores culturales sí, pues la costumbre de comer carne cruda o poco cocida y la de tener gatos en los hogares aumentan la probabilidad de infección (Almería *et al.*, 2004).

Las mujeres embarazadas constituyen el grupo de la población en el cual la adquisición de la toxoplasmosis repercute en forma más notoria, debido al riesgo de transmisión para el hijo. Las elevadas prevalencias han sido señaladas en zonas donde la población de mujeres, tiende al consumo de carne cruda o poco cocida (Cook *et al.*, 2000). En el Reino Unido se estima que cada año nacen 10 de cada 10,000 niños con toxoplasmosis adquirida congénitamente (Allain *et al.*, 1998).

En enfermos con alteraciones inmunológicas, la toxoplasmosis puede presentarse como una enfermedad diseminada, siendo en la mayoría de los casos, atribuible a la reactivación de una infección latente, más que a una

infección primaria. La enfermedad es en particular frecuente en pacientes con el Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), pero también se observa en ocasiones en enfermos con trastornos hematológicos malignos (en especial la enfermedad de Hodgkin) y con transplante de órganos (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

En el Perú Tejada y Balvín en 1989 mostraron mediante varios estudios que existe una mayor prevalencia de *T. gondii* en humanos en los departamentos de la selva, seguidos de la costa y en menor frecuencia de la sierra (citado por Marcas *et al.*, 2004).

2.2.5. Patogenia

Tras la ingestión de la forma infectiva, los parásitos son liberados de los quistes tisulares (bradizoítos) o de los ooquistes (esporozoítos) por el proceso digestivo en el tracto gastrointestinal del hospedero (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003), penetrando y multiplicándose en los enterocitos; formándose trofozoítos, que se diseminan por el torrente sanguíneo o linfático parasitando las células de una variedad de órganos, particularmente tejidos linfáticos, músculo esquelético, miocardio, retina, placenta, y más frecuentemente, el sistema nervioso central (SNC). Éstos penetran en las células de forma activa gracias a sus movimientos y a la producción de hialuronidasas y lisozimas, en algunas ocasiones lo hacen por un procedimiento similar a la fagocitosis (Barberán y Marco, 1997; Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003). Inmediatamente después de su penetración en una célula, el *T. gondii* es separado del citoplasma celular por una vacuola parasitófora, sintetizada conjuntamente por el parásito y por la célula hospedera, en el interior de la cual los taquizoítos se multiplican por endodiogenia formando pseudoquistes (Dubey *et al.*, 1998). Cuando el número de taquizoítos alojados en la vacuola parasitófora es muy elevado, la célula se desintegra, permitiendo su liberación al medio extracelular y la invasión de nuevas células. Este mecanismo, permite la multiplicación rápida del *T. gondii* en los primeros días post infección y su posterior difusión a los ganglios linfáticos

mesentéricos, donde una elevada proporción de taquizoítos son destruidos (Barberán y Marco, 1997).

Durante la fase de parasitemia que suele durar una semana, los taquizoítos libres o incluidos en macrófagos, linfocitos o neutrófilos son transportados por vía sanguínea o linfática, pudiendo alcanzar todos los tejidos. Su multiplicación en los diferentes tejidos da lugar a pequeños focos de necrosis, rodeados de células inflamatorias, especialmente mononucleares. La gravedad de las lesiones, depende del grado de destrucción tisular originado directamente por la multiplicación de los taquizoítos en el interior de las células (Barberán y Marco, 1997).

Durante la segunda semana post infección, la multiplicación de taquizoítos disminuye progresivamente, llegando a cesar completamente (Barberán y Marco, 1997). Es en esta fase, se forman algunos quistes en estos órganos y permanecen latentes toda la vida del hospedero, a menos que se produzca una depresión de su sistema inmune, en cuyo caso una proliferación activa del parásito puede causar la reactivación de la enfermedad local y diseminación importante (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003)

En hembras gestantes, los taquizoítos llegan al útero durante la fase de parasitemia y se multiplican en los cotiledones, originando pequeños focos de necrosis. En los cotiledones los taquizoítos se multiplican constantemente sin llegar a enquistarse, esto posiblemente debido a que el placentoma es un lugar inmunológicamente deprimido, donde el parásito no es afectado por las respuestas inmune humoral o celular, y estos mecanismos parecen influir de manera decisiva en la multiplicación y enquistamiento del *T. gondii*. Una vez que el *T. gondii* atraviesa la barrera placentaria, las consecuencias de la infección en el feto, dependerán de su capacidad para iniciar una respuesta inmune y por lo tanto de la edad fetal, en el momento de la infección (Barberán y Marco, 1997).

2.2.6. Signos clínicos y lesiones

2.2.6.1. Signos clínicos y lesiones en ovinos y caprinos

En ovinos y caprinos, la infección por *T. gondii* es asintomática, salvo que la primoinfección ocurra durante la preñez, en cuyo caso, la colonización placentaria va a dar lugar a diversos tipos de manifestaciones clínicas, dependiente de la etapa de gestación en la cual se infecte. Así, si la infección se produce en el primer tercio de gestación, el resultado suele ser la muerte fetal, seguida de reabsorción. Por otro lado, si la infección ocurre en el segundo tercio de gestación (70-120 días) dará como resultado, la muerte fetal seguida del aborto del feto o de la momificación o permitir la sobrevivencia del feto y el nacimiento de animales vivos (Barberan y Marco, 1997). Si la infección ocurre en el ultimo tercio de gestación (más de 120 días), puede dar lugar al nacimiento de corderos sanos, congénitamente infectados (Soulsby, 1987; Barberan y Marco, 1997).

Cuando la infección ocurre en el segundo tercio de gestación, los corderos infectados congénitamente muestran un cuadro clínico de gravedad variable, el cual va desde debilidad con dificultad para lactar, hasta la presentación de signos neurológicos (temblores, debilidad, abatimiento e incoordinación muscular). Al cabo de unos días, los corderos mueren por inanición o hipotermia (Barberan y Marco, 1997).

En ovinos y caprinos existen algunas diferencias; así en los ovinos, los abortos se producen si la primoinfección ocurre durante la preñez y no se repiten, mientras que en las cabras, no se sabe si por reinfecciones o reactivaciones, se pueden repetir los abortos por toxoplasmosis en el mismo animal (Dubey *et al.*, 1980).

Las lesiones más frecuentes en los animales infectados naturalmente. Se encuentran en la placenta, con focos de inflamación y necrosis localizadas en los cotiledones. En el feto, se puede presentar casos de momificación u observarse la expulsión de un feto bien conservado. Las lesiones pueden encontrarse en la

mayoría de los órganos, siendo más frecuente, las localizadas en cerebro, en el cual se observan focos de encefalomalacia, manguitos linfoides perivasculares, áreas de meningoencefalitis no purulenta y focos de gliosis (Barberan y Marco, 1997).

2.2.6.2. Signos clínicos y lesiones en porcinos

La mayoría de las infecciones por *T. gondii* en porcinos, son asintomáticas, sin embargo se han descritos casos de afecciones en animales recién nacidos hasta las 3 semanas de edad, manifestándose la enfermedad por un excesivo número de muertes en los lechones (Soulsby, 1987; Luzón-Peña y Cordero del Campillo, 1999). Los signos clínicos incluyen fiebre, escalofríos, debilidad, tos incoordinación, relajación de los músculos abdominales y diarrea. La forma aguda en lechones puede cursar con signos pulmonares (Soulsby, 1987). Las lesiones más frecuentes al examen post mortem son hipertrofia ganglionar generalizada, enteritis, neumonía intersticial y meningoencefalitis no supurativa; y al examen histológico, se pueden observar lesiones focales de carácter necrótico-inflamatorio, con predominio de células mononucleares en hígado, bazo, intestino, miocardio, así como gliosis multifocal e infiltrados perivasculares en el cerebro y las meninges (Luzón-Peña y Cordero del Campillo, 1999).

2.2.6.3. Signos clínicos y lesiones en caninos

En los perros la toxoplasmosis puede manifestarse con trastornos respiratorios, digestivos (diarrea hemorrágica) y nerviosos, siendo necesaria en perros de menor edad, su diferenciación del virus del Distemper canino, que cursa con similar sintomatología (Miró-Corrales y Cordero del Campillo, 1999). Las lesiones se caracterizan por presentar necrosis e infiltrado celular mononuclear, desarrollándose en cerebro una gliosis con infiltración perivascular. En el pulmón se observa, en el parénquima, nódulos necróticos con un exudado pleural. El bazo, hígado y ganglios regionales se pueden observar aumentados de tamaño (Soulsby, 1987).

2.2.6.4. Signos clínicos y lesiones en los felinos

La toxoplasmosis clínica es poco frecuente en los gatos, reportándose casos aislados que cursaron con signos de fiebre, anorexia, letargia, signos respiratorios, vómitos, diarrea, retinocoroiditis y uveitis anterior, cambios perivasculares y degenerativos del SNC, encefalitis y nefritis intersticial crónica (Soulsby, 1987; Miró-Corrales y Cordero del Campillo, 1999). Los casos de toxoplasmosis congénita, puede producir mortinatos, o nacimiento de crías débiles que mueren al cabo de unas horas. La lesión más frecuente al examen *post mortem*, es la hepatitis (Miró-Corrales y Cordero del Campillo, 1999).

2.2.6.5. Signos clínicos y lesiones en humanos

En individuos con un sistema inmunológico competente, la mayoría de las infecciones transcurren de forma asintomática, o con ligera sintomatología.

Las principales formas clínicas de la enfermedad son:

a. Toxoplasmosis aguda

La infección aguda por *T. gondii* en mujeres gestantes, se presenta en un 90% de los casos en forma asintomática. Los signos clínicos más frecuentes son: adenopatías, fiebre, malestar general, cefalea, mialgias, odinofagia, eritema máculo papular, hepatomegalia y esplenomegalia. Raramente ocurre coriorretinitis, pues es más frecuente en la forma crónica. El leucograma puede mostrar linfocitosis y linfocitos atípicos, lo que obliga a hacer diagnóstico diferencial con infecciones virales como citomegalovirus y mononucleosis infecciosa. En pacientes inmunosuprimidas, puede presentarse compromiso pulmonar o del sistema nervioso central (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2004)

b. Toxoplasmosis ganglionar o linfática

Es la forma clínica más común de la toxoplasmosis adquirida y se presenta en niños y adultos jóvenes. Puede transcurrir inicialmente en forma asintomática o con ligeros síntomas. El período de incubación varía entre dos semanas y dos

meses. El cuadro clínico más frecuente es un síndrome febril con las características descritas de la forma aguda, en el cual predominan las poliadenopatías. En general, la evolución es benigna y después de varias semanas o meses desaparece el cuadro característico (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

c. Toxoplasmosis ocular

En los ojos, los infiltrados de monocitos, linfocitos y células plasmáticas pueden producir lesiones unifocales ó multifocales. Pueden ser observadas lesiones granulomatosas y retinocoroiditis en la cámara posterior, seguidas por retinitis aguda necrosante. Otras complicaciones de infección oculares incluyen iridociclitis, cataratas y glaucoma (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

García et al (2002) hallaron que el 88.66% de los casos de uveítis diagnosticadas en el INO fue debido a Toxoplasmosis.

d. Toxoplasmosis congénita

Cuando la madre se infecta por primera vez durante el embarazo, existe el riesgo de transmisión congénita en el 65% de los fetos cuyas madres tuvieron la infección en el último trimestre; esta cifra disminuye hasta el 30-54% cuando la infección fue adquirida en el segundo y a 10-15% si lo fue en el primer trimestre. La infección en la madre es generalmente benigna o transcurre asintomática. Si la infección fue adquirida antes de la gestación (seis meses o más antes de la concepción), el niño no desarrolla infección congénita. Se han descrito casos de abortos o mortinatos en infecciones recientes, pero no hay evidencia definitiva de abortos a repetición asociados a la toxoplasmosis. Según la literatura, del 70% al 75% de los recién nacidos infectados son asintomáticos, el 20% tiene una forma aguda generalizada o secuelas neurológicas y del 8% al 10% presenta compromiso ocular solamente (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003; Martín-Hernández, 2004).

e. Toxoplasmosis en pacientes inmunocomprometidos

En pacientes inmunocomprometidos, la toxoplasmosis puede presentarse como una enfermedad diseminada. En la mayoría de los casos es probable que sea la reactivación de una infección latente más que una infección primaria. La manifestación más común en pacientes con el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es la afección del SNC con fiebre, cefalea y confusión que progresa hasta el coma, signos neurológicos focales y convulsiones (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

2.2.7. Inmunidad

2.2.7.1. Inmunidad humoral

Durante la respuesta humoral, el parásito induce rápidamente niveles detectables de anticuerpos de tipo IgM e IgG en el suero. La evolución más frecuente (>90% de los casos), sea o no la infección sintomática, ocurre con nivel elevado de IgM que desaparece después de varios meses, siendo el título de IgG ascendente durante dos o tres meses o persistente durante 6 a 12 meses, para después ir disminuyendo lentamente (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

2.2.7.2. Inmunidad celular

La inmunidad mediada por células es la mayor respuesta protectora activada por el parásito durante la infección al hospedero.

Los macrófagos son activados siguiendo la fagocitosis de parásitos opsonizados por anticuerpos. Estudios recientes han demostrado que si el parásito no es fagocitado y entra al macrófago por penetración activa, éste continúa la replicación (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

La respuesta inmune mediada por células es crucial en la prevención de la infección por *T. gondii*, considerándose que el IFN- γ es el centro de protección

contra las infecciones por parásitos intracelulares; jugando un rol principal en la resistencia contra la infección por *T. gondii* en ratones (Lee *et al.*, 2000).

Las células T son activadas por una gran variedad antigénica, pudiendo ser antígenos asociados a membrana o citoplasmáticos. La vía de presentación de antígenos mediada por los linfocitos CD8+ está regulada por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y, de esta forma, parece controlarse el número de quistes de *T. gondii* que sobrevivirán. La respuesta de células T CD4+ y CD8+ es antígeno-específica, además estimula la producción de varias linfocinas como la IL-2, IL-4, IL-5 y IL-10 (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003). La inducción de la interleucina-12 por los macrófagos es un mecanismo principal que conduce rápidamente a la síntesis de IFN- γ . Esta citocina, además de promover la diferenciación de las células efectoras Th1, es importante en la activación del macrófago y de la adquisición de funciones microbidas, como la liberación de óxido nítrico. Durante la infección crónica, linfocitos T específicos del parásito, liberan altos niveles de IFN- γ , que es requerido para prevenir la reactivación del quiste. La actividad citolítica, mediada por células T, contra las células infectadas, demuestra fácilmente el rol secundario que desempeña la producción de citocinas inflamatorias (Denkers y Gazzinelli, 1998).

Por otro lado, la IL-10 parece modular la síntesis, tanto de IL-12 como la del interferón- γ (IFN- γ) in vivo, evitando una respuesta inmune excesiva que podría causar inflamación extensiva y daño en los tejidos hospederos (Neyer *et al.*, 1997). Además de la IL-12, también las IL- 7 y 15 parecen ser importantes durante la infección aguda, regulando la producción de IFN- γ . Las citocinas como el IFN- γ y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), activadores de la función de los macrófagos, son importantes en el control de la replicación de los taquizoitos durante las fases aguda y crónica de la infección (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

2.2.8. Diagnóstico

2.2.8.1. Diagnóstico clínico y lesional

En la mayoría de especies, la infección por *T. gondii* cursa en forma subclínica. La sintomatología en caso de presentarse, consiste en fiebre, taquipnea, anorexia y ocasionalmente diarrea. Los síntomas no son específicos y, por el contrario acompañan a otros múltiples procesos patológicos. Por otro lado, en los animales gestantes, no suele observarse sintomatología, aunque dependiendo de la etapa en que se diese la infección, será acompañada de muerte embrionaria o fetal, aborto, muerte neonatal o nacimiento de crías débiles con malformaciones. Desde el punto de vista lesional, la multiplicación del parásito en la placenta originará focos de necrosis, los cuales darán la apariencia de pequeños puntos blanquecinos de 1 a 2 mm de diámetro. En el feto no se observan lesiones macroscópicas, pero pueden presentarse casos de momificación o autólisis (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

2.2.8.2. Diagnóstico Serológico

a. Prueba de Sabin y Feldman o Dye test

Las diluciones de suero descomplementado se incuban a 37°C con los parásitos vivos y suero fresco, desprovisto de anticuerpos y de acción lítica espontánea. El complemento, activado por los anticuerpos unidos a la superficie del microorganismo, lisa la membrana celular y mata al mismo. La reacción positiva se demuestra porque los taquizoítos no se tiñen con el colorante vital azul de metileno alcalino; inversamente en la reacción negativa, los taquizoítos vivos se tiñen intensamente de azul (Martínez-Fernández *et al.*, 1999). Este método de referencia se practica poco porque implica mucho manejo, la producción regular de parásitos y alto riesgo para los manipuladores, debido a que se trabaja con el parásito vivo (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

b. Prueba de aglutinación en látex

Se usa para la determinación de IgG. El suero previamente tratado con 2-mercaptoetanol, se estudia en placa de microaglutinación sobre dos diluciones

diferentes o más, según se trate de un tamizaje o de una titulación. Una reacción negativa se traduce en la formación de un botón de sedimentación redondo, de bordes netos. Las reacciones positivas muestran una sedimentación en forma de velo cuyas características morfológicas pueden diferir de un suero a otro: velo homogéneo, granuloso o de bordes replegados (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003). Esta técnica tiene la ventaja de no requerir ningún reactivo específico (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

c. Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI)

Los glóbulos rojos estabilizados y sensibilizados se ponen en contacto con la muestra a analizar. La presencia de anticuerpos se traduce por un fenómeno de hemaglutinación. El tratamiento del suero con 2-mercaptoetanol permite distinguir la IgG tras la supresión de la actividad aglutinante de la IgM (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003)

d. Prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

En esta prueba, se utiliza como antígeno los taquizoítos del *T. gondii* previamente formolinizados y fijados en portaobjetos de inmunofluorescencia que posteriormente se enfrentan a diluciones crecientes del suero problema. En caso de que existan anticuerpos específicos, estos se fijan a los taquizoítos y la unión se pone de manifiesto al añadir un conjugado compuesto de una inmunoglobulina anti-especie (dependiente de la especie a examinar) unida al fluorocromo isotiocianato de fluoresceína (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

e. Ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA)

Este método presenta ventajas como son: la ausencia de riesgo durante la manipulación, automatización y la estabilidad de los reactivos que se emplean en su ejecución, lo que unido a una elevada sensibilidad y especificidad lo han hecho valioso en el diagnóstico de enfermedades parasitarias. Este ensayo puede ser utilizado en la búsqueda de antígenos y anticuerpos en diferentes tipo de muestra (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Las técnicas inmunoenzimáticas permiten la detección de anticuerpos anti-toxoplásmicos en un medio complejo y normalmente se utilizan tres principios técnicos para la detección de estos anticuerpos: la inmunocompetencia, el método indirecto y la inmunocaptura (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

2.2.8.3. Diagnóstico no serológico

a. Examen fecal

El examen fecal es realizado en el hospedero definitivo. Su diagnóstico se basa en la observación de ooquiste en la materia fecal. Sin embargo, el resultado negativo de un animal, no indica que no presente la infección, esto debido a que el felino, elimina los ooquistes con el material fecal sólo por un período breve de 3 a 15 días y al adquirir inmunidad cesa la producción de ooquistes (Leguía, 1996; Rojas *et al*, 1989).

b. Aislamiento del parásito

El aislamiento del parásito, puede darse a partir de tejidos fetales y/o placentas, mediante la inoculación intraperitoneal en ratón de un macerado de dichos tejidos. Los tejidos de elección son los cotiledones placentarios y el cerebro fetal. Algunas cepas resultan fatales para el ratón al cabo de 5 a 12 días y el parásito se puede poner en evidencia a partir de frotis de exudados peritoneales. La desventaja de esta técnica es que requiere periodos de tiempo prolongados, ya que los ratones inoculados desarrollan la fase subclínica y debe mantenerse durante un periodo de ocho semanas para posteriormente investigar en ellos la presencia de quistes en el cerebro o de anticuerpos séricos específicos frente al parásito, (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

c. Inmunohistoquímica (IHQ)

Para paliar los problemas de visualización de las fases de *T. gondii* en los cortes histológicos, la identificación de taquizoítos o bradizoítos del parásito se puede llevar a cabo mediante el uso de anticuerpos policlonales o monoclonales

específicos frente al parásito, unido a un fluorocromo (normalmente isotiocianato de fluoresceína) o utilizando la técnica de la peroxidasa-antiperoxidasa. Esta última tiene la ventaja de que no requiere un microscopio de fluorescencia para realizar la lectura (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

d. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La amplificación específica de ADN de *T. gondii* a partir de tejidos fetales y/o placentarios ofrece una manera rápida y sensible de detectar al parásito en menos de 24 horas. Esta técnica se fundamenta en la amplificación específica de determinados genes o fragmentos de genes; en concreto, el gen B1 o parte del gen P30. La técnica es muy sensible y capaz de detectar contaminaciones por un único taquizoito. Debido a su elevada sensibilidad la colección de muestras debe realizarse con precaución con el fin de evitar contaminaciones de ácidos nucleicos del parásito procedente de otras fuentes (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

2.2.9. Prevención y control

La prevención y control en los casos infecciosos como lo es la toxoplasmosis, siempre deben ir de la mano, y actuar sobre todos los posibles factores por los cuales pueda darse la infección.

- a. **En el hospedero definitivo:** Las medidas de prevención y control deben ser inclinadas a evitar la eliminación de ooquistes, para lo cual se debe optar por:
 - Proporcionar a los gatos, alimento cocido ya sea de preparación doméstica o comercial.
 - La castración y buena alimentación de los gatos, les promueve hábitos sedentarios y tienen una menor tendencia a la caza, medio por el cual puedan ellos infectarse.

- Disponer de una bandeja, donde el gato haga sus deposiciones, el cual será vertido a la red de desagüe para su eliminación. Se debe lavar diariamente el recipiente.
- b. **En el hospedero intermediario:** deben de tomarse las medidas preventivas, dependientes del tipo de hospedero intermediario afectado.

En el ganado: el cual puede ser ovino, caprino, camélidos entre otros es necesario:

- Evitar la presencia de felinos domésticos en las áreas de pastoreo del ganado.
- Controlar la población de felinos silvestres (depredadores de ganado como el puma) en áreas donde se cría el ganado.
- Realizar rotación de pasturas, para evitar el sobrepastoreo y la mayor exposición del ganado a infecciones con ooquistes. Al mismo tiempo el descanso de la pastura proporcionara medios ambientales desfavorables para la sobrevivencia del ooquiste.
- Realizar monitoreos serológicos, con el fin de descartar a los animales seropositivos, manteniendo un hato libre de la infección.
- Desechar adecuadamente los restos de placenta o abortos, evitando así que algún felino pueda consumirlos y con ello elimine ooquistes.
- Mantener los alimentos y agua de bebida del ganado en almacenes o lugares protegidos del libre acceso de los felinos.

En el humano: es necesario tomar medidas higiénicas sanitarias, sobretodo en los casos de pacientes inmunodeprimidos y mujeres gestantes seronegativas a este parásito, como:

- Cocción adecuada de los alimentos y en especial de las carnes.
- Lavarse las manos con agua y jabón antes de ingerir alimentos.

- Lavar las verduras y frutas antes de consumir.
- Si se trabaja con tierra, protegerse con guantes y máscara.
- Tener especial cuidado con los gatos. Preferiblemente, este tipo de pacientes debe evitar el contacto con los gatos y en especial con sus heces. Si tiene que realizar el cambio de la arena higiénica, debe realizarlo con máscara y guantes. Después lavarse bien las manos (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Existen varias suposiciones sobre los posibles factores que favorecen la presentación de toxoplasmosis; es así que, un estudio realizado en Colombia en mujeres gestantes, encontró un menor riesgo de infección por *T. gondii* en grupo de mujeres que sólo bebían agua en bolsa o botellón, quedando aún inconcluso la medición del impacto de medidas tales como ofrecer agua envasada en la población económicamente desfavorecida y evaluar su costo beneficio como actividad de salud pública (López-Castillo *et al.*, 2005).

2.2.10. Tratamiento

Trabajos recientes sugieren que la administración de Monensina en una cantidad de 10 a 20 mg/día a hembras gestantes previenen el aborto. Dicha droga no fue aprobada en EE.UU. y es utilizada en el Reino Unido y en Australia. Por otro lado, la droga Lasolacid, probada bajo condiciones experimentales, mostró no ser eficiente para prevenir los abortos.

2.2.11. Inmunoprofilaxis

En 1988 se lanzó al mercado neozelandés una vacuna para prevenir los abortos en ovinos, en 1992 la misma vacuna (Toxovax) se comenzó a utilizar en países de Europa. Toxovax® es empleada para la prevención de abortos, en ovejas y cabras, por *T. gondii*. Esta vacuna esta elaborada en base a taquizoítos vivos de la cepa S48 de *T. gondii*, aislada en ratones a partir de la inoculación de

material extraído de membranas fetales de corderos abortados. Después de 3000 pasajes en ratón, la cepa ha perdido la capacidad de desarrollar quistes tisulares e infecciones persistentes y si se administra a gatos, no se forman ooquistes. La protección adquirida después de la administración de la vacuna parece ser muy buena durante 18 meses (Buxton *et al.*, 1991; 1993). La vía de aplicación es la intramuscular, empleando una dosis de 2 ml. por oveja.

Sin embargo, se han realizando estudios experimentales con el fin de encontrar una vacuna específica contra el *T. gondii*, ya sea analizando diversos antígenos de membrana o diversas proteínas. Es así que en 1991 se empleó experimentalmente el antígeno de membrana p30 del *T. gondii*, en un ratón, el cual confirió cierto grado de inmunidad, recomendándose su aplicación en vacunas para la inmunización de personas o del ganado doméstico, que son fuente de infección en el humano (Bulow y Boothroyd, 1991).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en el mes de Junio del 2003, en el distrito de San Cristóbal (Proyecto San Cristóbal y alrededores), ubicado en la zona de influencia de la Reserva Nacional de Pampa Galeras, provincia de Lucanas, Departamento de Ayacucho. Se localiza entre los 14°39' a 14°45' de latitud sur y 75°19' a 74°27' longitud oeste. El promedio de altitud, se encuentra entre los 3.800 y 5.000 msnm, y su temperatura promedio anual es de 5°C. Está densamente cubierta de ichu y tiene una extensión de 6,500 hectáreas en las cuales habitan la vicuña.

3.2. Animales

El proyecto San Cristóbal y alrededores posee 10655 vicuñas, realizándose para este estudio la captura de 384 animales en la zona conocido como Jassu en terrenos del proyecto, mediante el método de chacu o corral-trampa, el cual fue diseñado como un módulo móvil que fue desplazado a las áreas de mayor población de vicuñas, en la zona determinada previamente, como territorios de grupos familiares o tropillas de machos.

Las muestras de 191 vicuñas fueron obtenidas al azar, diferenciándolas sólo por sexo y edad, en proporción a su distribución poblacional, no así por su

historia de aborto. Cabe resaltar que las vicuñas cohabitan con zorros, pumas y perros pastores.

3.3. Tamaño muestral.

El número de muestras de sangre se determinó usando la fórmula para proporciones en poblaciones finitas (Daniel, 1996):

$$n = \frac{(N) (z)^2 (p) (q)}{(e)^2 (N-1) + (z)^2 (p) (q)}$$

Donde:

n = Tamaño mínimo de la muestra.

z = 1.96 (95% de nivel de confianza)

p = prevalencia referencial anterior de 14.85 % (Pastor, 2002).

q = complemento de prevalencia referencial.

e = 0.05 (Error máximo admisible).

N = 10655 animales

Reemplazando:

$$n = \frac{(10655) (1.96)^2 (0.1485)(0.8515)}{(0.05)^2 (10654) + (1.96)^2 (0.1485)(0.8515)}$$

$$n = 191 \text{ animales}$$

La estratificación se realizó en función a las variables sexo y edad (Cuadro 1 y 2), empleando la siguiente fórmula (Pérez, 2000).

$$n_h = \frac{(N_h)(n)}{N}$$

Donde:

n_h = Número de animales a muestrear en cada estrato

N_h = Total de animales en cada estrato

n = Total de animales a muestrear

N = Total de animales

Cuadro 1. Población total y tamaño muestral de vicuñas, de la Reserva Nacional de Pampa Galeras – Proyecto San Cristóbal y alrededores. Según sexo. 2003.

Sexo	Población	Tamaño muestral
Macho	5257	94
Hembra	5398	97
Total	10655	191

Cuadro 2. Población total y tamaño muestral de vicuñas, de la Reserva Nacional de Pampa Galeras – Proyecto San Cristóbal y alrededores. Según grupo etáreo. 2003.

Categoría	Población	Tamaño muestral
Crías	1027	18
Juveniles	4320	78
Adultos	5308	95
Total	10655	191

Las vicuñas son consideradas crías hasta los 9 meses de edad, juveniles entre los 9 hasta los 18 meses y adultos a partir de los 18 meses de edad (Zúñiga, 1998).

3.4. Materiales

3.4.1. Materiales para la colección de muestras

- Vacutainers de 10 ml, sin anticoagulante.
- Agujas N° 20 x 1 ½ “de doble vía.
- Pipetas de transferencia de 3 ml.
- Microtubos para la colección de suero (2 ml.).
- Cajas térmicas y geles congelantes.

3.4.2. Materiales para la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta

- Anti Ig G de llama marcado con Isotiocianato de Fluoresceína (VMRD, USA).
- Antígeno de *Toxoplasma gondii* (taquizoíto cepa ME-49).

- Azul de Evans 0.01%.
- Glicerina.
- Láminas para Inmunofluorescencia (18 pozos).
- Puntas descartables para micropipetas.
- Laminillas cubreobjetos (24 x 60 mm)
- Micropipetas "BIOHIT" DE 1-10 µL., 10-100 µL., 100-1000µL.
- Solución Salina Fosfatada (PBS).
- Agitador "Stuart Scientific".
- Estufa "Gallenkamp", temperada a 37 °C.
- Microscopio de Fluorescencia "Leica".

3.5. Toma de muestra

Las muestras sanguíneas, fueron obtenidas por punción de la vena cefálica y/o yugular, recolectadas con ayuda de tubos vacutainer de 7ml y agujas doble vía venoject 20 x 1". Una vez recolectadas las muestras, se procedió a extraer el suero, el cual fue trasvasado a microtubos de 2 ml., rotulándolos adecuadamente (número de muestra, edad y sexo), para posteriormente llevarlos a congelación a -20°C hasta su análisis en el laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM, mediante la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta.

3.6. Procesamiento de las muestras

La prueba de Inmunofluorescencia Indirecta se basa en la reacción antígeno-anticuerpo, debido a la unión de anticuerpos presentes en el suero problema, con el antígeno de *T. gondii*, el cual expuesto a un anti IgG marcado con un fluorocromo (isotiocianato de fluoresceína), dará una fluorescencia si existe reacción.

3.6.1. Fijación de antígeno

1. Se procedió a limpiar con alcohol las láminas de 18 pozos, para inmunofluorescencia.
2. Paralelamente se homogenizó el antígeno (taquizoítos de *T. gondii*), dispuesto en microtubos de 1.5 ml., para lo cual se empleó una jeringa de tuberculina que permitiese la disgregación de las posibles aglomeraciones de taquizoitos.
3. Se procedió a colocar 10 ul. del antígeno, en cada pocillo de la lámina, dejándolos secar al medio ambiente.
4. Una vez secas las láminas, se colocaron en acetona a -20°C durante 10 minutos.
5. Luego se lavó con agua destilada durante 5 minutos, en leve agitación.
6. Las láminas una vez secas, fueron rotuladas y guardas en refrigeración, hasta su utilización.

3.6.2. Procedimiento

1. Se realizó la dilución 1:200 del suero problema y buffer dilutor (PBS)
2. Luego se colocó 10 ul. de cada muestra diluida en los pozos de la lámina, previamente antigenada (según lo indicado anteriormente).
3. Se colocaron las láminas en una cámara húmeda y se llevó a estufa por 30 minutos a 37°C.
4. Se retiraron las láminas de la estufa y se procedió a su lavado con buffer de lavado, durante 10 minutos en leve agitación. Se repitió este procedimiento una segunda vez.
5. Se secaron levemente las láminas, procurando que los pozos queden húmedos.
6. Luego se le añadió a cada pozo, 10 ul del conjugado anti Ig. G de llama (VMRD).
7. Se llevó nuevamente a estufa, en cámara húmeda, durante 30 minutos a 37°C.

8. Una vez retirada de la estufa, se procedió a colocarlo en azul de Evans (0.01%), durante 10 minutos en leve agitación. Este paso se repitió una segunda vez.
9. Finalmente se procedió al lavado de las láminas con agua destilada, durante 5 minutos en leve agitación. Una vez secas las láminas, se añadió glicerina al 50% (pH 8), colocándoles una laminilla cubreobjeto, para posteriormente realizar su lectura en el microscopio de inmunofluorescencia.

3.7. Interpretación de Resultados.

La interpretación de los resultados al momento de la lectura fue el siguiente:

- Positivo : Si el taquizoíto presentó fluorescencia total.
- Negativo: Si el taquizoíto presentó fluorescencia apical o ausencia de fluorescencia.

3.8. Análisis de datos.

3.8.1. Prevalencia (P)

Los resultados de la prevalencia se expresaron en forma porcentual, empleando la siguiente fórmula (Thrusfield, 1990):

$$P = \frac{\text{Nº de muestras positivas}}{\text{Nº total de muestras}} \times 100$$

3.8.2. Intervalo de Confianza (IC)

Se estimará mediante la siguiente fórmula: (Armitage y Berry, 1987):

$$IC = p \pm Z \sqrt{\frac{pq}{n}}$$

Donde:

p: prevalencia.

q: 1-p

z: 95% del nivel de confianza (1.96).

n: tamaño muestral.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* obtenida en vicuñas de la Reserva Nacional de Pampa Galeras, fue de $5.8 \pm 3.3\%$ (Cuadro 3), prevalencia considerada baja si la comparamos con los resultados obtenidos en otros estudios; esto posiblemente atribuido a diversos factores, entre los que se puede mencionar, la técnica empleada, procedencia de las muestras, presencia de hospederos definitivos, tipo de crianza, entre otros.

Los resultados de seroprevalencia de *T. gondii* hallados en el estudio fueron menores con el realizado por Pastor *et al.* (2003), los que hallaron una prevalencia de 14.85%, en vicuñas del INIA-Puno. Sin embargo, esto posiblemente se debió a la técnica diagnóstica empleada, ya que Pastor *et al.* utilizaron la técnica de hemoaglutinación indirecta, a diferencia de este estudio donde se empleó la prueba de inmunofluorescencia indirecta. Así mismo la dilución empleada en la técnica de IFI fue de 1/200, y no la dilución de 1/50 utilizada anteriormente en las evaluaciones de CSA domésticos, ya que al utilizar una mayor dilución se reduciría la sobreestimación de la infección (Chavez-Velasquez *et al.*, 2005).

Por otro lado, el área geográfica, podría también influir en los resultados obtenidos, esto debido a que nuestro muestreo se realizó en animales

pertenecientes a la Reserva Nacional de Pampa Galeras – Proyecto San Cristóbal y aledaños, Departamento de Ayacucho, donde sólo se crían vicuñas en un espacio de 6 500 hectáreas, mientras que el estudio realizado por Pastor *et al.* fue realizado en la zona Sur del país (Puno), donde se efectúa pastoreo mixto con otras especies de CSA y donde se han reportado prevalencias elevadas de *T. gondii* en llamas (10.2%) y alpacas (35.7%) (Saravia *et al.*, 2004; Ramírez, 2005); mientras que la zona central de nuestro país, presenta prevalencias menores (13.65%)(Chang, 2005, en prensa), esto debido posiblemente a las diversos factores medioambientales como la temperatura, humedad y altitud, los cuales podrían ser más favorables para la sobrevivencia de la forma infectiva del parásito (ooquiste) en la sierra sur del país.

En cuanto a la presencia de hospederos definitivos en la zona de estudio, éstos son escasos ya que las vicuñas, son mantenidas de forma extensiva en altitudes que varían desde 3 800 a 4 800 msnm (Zúñiga, 1998); por lo que a esa altitud la presencia de gatos domésticos es poco probable, por encontrarse alejado de zonas pobladas. En esos lugares sería más frecuente de hallar felinos silvestres como el puma, los cuales podrían actuar como eliminador y diseminador de la forma infectiva del parásito (ooquiste) a través de las heces. El puma acostumbra acercarse a los bofedales o puquiales al igual que las vicuñas con el fin de beber agua, así como para alimentarse, ya que las zonas de los puquiales son las áreas con mejores pastos, por las condiciones favorables de humedad. Esto posiblemente haya influido en la exposición de las vicuñas al parásito, sin embargo, la población de felinos silvestres en la Reserva de Pampa Galeras es escasa, posibilitando a una reducida exposición de las vicuñas al parásito.

Rojas *et al.* (1989), realizaron estudios sobre seroprevalencia de *T. gondii* en el altiplano norteño de Chile, en diversas poblaciones de camélidos: vicuñas (11), alpacas (60) y llamas (32), hallando moderadas prevalencias en hembras (27.3%, 24.4% y 25.1%, respectivamente). Los mayores resultados en vicuñas (27.3%) obtenidos por Rojas *et al.* (1989) difieren del nuestro, probablemente

debido al tamaño muestral empleado, que fue menor al utilizado en el presente estudio. Así también, pueda deberse a la crianza mixta de estas especies, de las cuales diversos autores reportan mayores prevalencias por este parásito, así en alpacas (Leguía *et al.*, 1987; Góngora, 1992; Poma, 2003; Gómez *et al.*, 2003; Marcas *et al.*, 2004; Suárez *et al.*, 2004; Ramírez, 2005) y en llamas (Gómez *et al.*, 2003; Saravia *et al.*, 2004), cuyos valores variaron de 21% a 53% en alpacas, mientras que en llamas fue de 32% y 10.2% respectivamente. Los mayores resultados en vicuñas (27.3%) obtenidos por Rojas *et al.* (1989) difieren del nuestro probablemente debido a la crianza mixta realizada en aquel estudio, a diferencia de lo que ocurre con el manejo de las vicuñas en el territorio de la Reserva Nacional de Pampa Galeras, donde estas se hayan menos expuestas a infecciones de otras especies.

Asimismo, la baja prevalencia hallada en vicuñas, a diferencia de otras especies de CSA domésticos, estaría influenciada por el tipo de manejo, debido a que dentro de los CSA, la alpaca recibe un manejo, con mayores exigencias (debido a la producción de fibra), y donde se somete al animal a mayor estrés, durante las diversas faenas de manejo (empadre, esquila y dosificaciones, entre otras), lo que posibilita la disminución de sus defensas inmunitarias y lo expone a cualquier tipo de infección (Tizard, 1995). Condiciones menos severas son aplicadas a las llamas, en las cuales el tipo de producción es más extensivo, y menos exigente que en alpacas; sin embargo, en las vicuñas, por ser CSA silvestres, las condiciones de producción no son muy exigentes, siendo su crianza en el Proyecto San Cristóbal y alrededores muy similar a las condiciones de su hábitat natural de esta especie; por lo cual, los factores estresantes, serían escasos (Zúñiga, 1998).

En cuanto a la prevalencia hallada, según el sexo (Cuadro 3), las vicuñas hembras aparentemente presentaron mayor seroprevalencia, que los machos (7.2% y 4.3%, respectivamente), sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre machos y hembras.

Respecto al grupo etéreo (Cuadro 4), no se detectó la presencia de animales reactores positivos en el grupo de crías, a diferencia de los juveniles y adultos, en los cuales se observó prevalencias de 7.7% y 5.3% respectivamente, sin embargo entre estos grupos no se encontraron diferencia estadística significativa. Esto posiblemente este influenciado al escaso número de crías evaluadas así mismo que muchas de ellas aún se encontraron entre las etapas de lactación y destete, siendo menos probable la ingestión del ooquistes del parásito, a diferencia de los animales juveniles y adultos, que a mayor edad tienen mayor probabilidad de exposición al parásito.

En los últimos años, el manejo de las poblaciones de vicuña ha cobrado mayor importancia dentro de las actividades económicas del poblador alto-andino debido a la comercialización legal de la fibra. Sin embargo, estudios zoo-sanitarios relacionados a la especie son escasos. El presente estudio indica que existe exposición de las vicuñas de la Reserva Nacional de Pampa Galeras a *Toxoplasma gondii*. Aún cuando los niveles de prevalencia hallados son bajos, es necesario realizar mayores estudios a fin de determinar la implicancia de este parásito en el éxito reproductivo de la especie.

Cuadro 3. Seroprevalencia de *T. gondii* en vicuñas, de la Reserva Nacional de Pampa Galeras – Proyecto San Cristóbal y alrededores, según sexo. 2003.

Sexo	Animales muestreados	Animales seropositivos	
		Nº.	%±I.C
Macho	94	4	4.3±4.1
Hembra	97	7	7.2±5.1
TOTAL	191	11	5.8±3.3

I.C. : Intervalo de confianza

Cuadro 4. Seroprevalencia de *T. gondii* en vicuñas, de la Reserva Nacional de Pampa Galeras – Proyecto San Cristóbal y alrededores, según grupo etáreo. 2003.

Categoría	Animales muestreados	Animales seropositivos	
		Nº.	%±I.C
Crías	18	0	-
Juveniles	78	6	7.7±5.9
Adultos	95	5	5.3±4.5

I.C. : Intervalo de confianza

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La seroprevalencia estimada en vicuñas de la Reserva Nacional de Pampa Galeras, fue baja ($5.8 \pm 3.3\%$).
- No se observaron diferencias estadísticas significativas entre los reactores a *Toxoplasma gondii* para las variables sexo y grupo etáreo.
- Se recomienda realizar mayores estudios en vicuñas, que permitan dilucidar la verdadera implicancia del *T. gondii* en esta especie.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acha, P.; B. Szyfres. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da. Ed. p 646-656. Publicación científica No. 503. OPS.
2. Allain, JP.; CR. Palmer; G. Pearson. 1998. Epidemiological study of latent and recent infection by *T. gondii* in pregnant women from a regional population in the U.K. J. Infect. 36(2):189-196.
3. Almería, S.; C. Calvete; A. Pagés; C. Gauss; J.P. Dubey. 2004. Factors affecting the seroprevalence of *T. gondii* infection in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from Spain. Vet. Parasitol. 123: 265-270.
4. Armitage, P.; G. Berry. 1987. Statical methods in Medical Research. 2^a ed. p. 115 – 120. Blackwell Scientific Publications. Gran Bretaña.
5. Azevedo, SS.; CS. Batista; SA. Vasconcellos; DM. Aguiar; AM. Ragozo; AA. Rodrigues; CJ. Alves; SM. Gennari. 2005. Seroepidemiology of *T. gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. Res. Vet. Sci. 79(1):51-56.

6. Barberan, M.; JC. Marco. 1997. Patogenia, cuadro clínico y lesional. En: Tratado de Patología y Producción Ovina. Cap. 3. L. Ortega (ed). Ed. Luzan. Madrid.
7. Beyer; TV.; EA. Shevkunova. 1986. A review of toxoplasmosis of animals in the U.S.S.R. Vet Parasitol. 19: 225-243.
8. Blood, D.; O. Radostits. 1992. Medicina Veterinaria. 7ma ed. p 1083-1087. Edit. Mc Graw-Hill Interamericana. México.
9. Brenes, E.; K. Madrigal; F. Pérez; K. Valladares. 2001. El cluster de los camélidos en Perú: diagnóstico competitivo y recomendaciones estratégicas. En: Proyecto Andino de Competitividad. I.N.C.A.E. p. 71.
10. Bulow, R.; JC. Boothroyd. 1991. Protection of mice from fatal *T. gondii* infection by immunization with p30 antigen liposomes. J. Immunol. 147(10):3496-3500.
11. Buxton, D.; EA. Innes. 1995. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. Parasitol. 110. Suppl:S11-16.
12. Buxton, D.; K. Thomson; S. Maley; S. Wright; HJ. Bos. 1991. Vaccination of sheep with a live incomplete strain (S48) of *T. gondii* and their immunity to challenge when pregnant. Vet. Rec. 129(5):89-93.
13. Buxton, D.; KM. Thomson; S. Maley; S. Wright; HJ. Bos. 1993. Experimental challenge of sheep 18 months after vaccination with a live (s48) *T. gondii* vaccine. Vet. Rec. 133(13):310-312.

14. Caldas, P. 2005. Seroprevalencia del *T. gondii* en borregas de una empresa ganadera de la sierra central–Junín. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 69 p.
15. Canada, N.; CS. Meireles; A. Rocha; JM. da Costa; MW. Erickson; JP. Dubey. 2002. Isolation of viable *T. gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. J. Parasitol. 88(6):1247-1248.
16. Carpio, M.; Z. Solari. 1982. Diámetro de la fibra en el vellon de vicuña. En: informes de Trabajos de Investigación en vicuñas. p 54-102. UNALM. Lima.
17. Chang, K. 2005. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas hembras de la SAIS Pachacútec. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 62 p. (en prensa).
18. Chávez-Velásquez, A; G. Álvarez-García; M, Gómez-Bautista; E, Casas-Astos; E, Serrano-Martínez; L.M, Ortega-Mora. 2005. *Toxoplasma gondii* infection in adult llamas (*Lama glama*) and Vicunas (*Vicugna vicugna*) en the Peruvian Andean Region. Vet. Parasitol. 130 (4):93-97.
19. CONACS. 2000. Consejo Nacional de CAMELIDOS Sudamericanos. Evaluación Poblacional de Vicuñas 2000.
<http://www.minag.gob.pe/minag/conacs/indeci.htm> (22/11/2002).
20. CONACS. 2005 Fuente: internacional Vicuña Consortium (IVC), Sociedad Nacional de la Vicuña (SNV). Elaboración: Prog. Camélidos Silvestres CONACS.:Fibra predescerdada procedente de vicuñas esquiladas vivas,; Estimado en base a condiciones de Convenio SNV-IVC. (°) Nov. Del 2002.
21. Cook, AJC.; RE. Gilbert; W. Buffolano; J. Zufferey; E. Petersen; PA. Jenum; W. Foulon; AE. Semprini; DT. Dunn. 2000. Sources of Toxoplasma infection

- in pregnant women European multicentre case-control study. B.M.J. 321:142-147.
22. Daniel, W. 1996. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 3a. Ed. p. 202-209. Limusa S.A., México.
23. Denkers, EY.; RT. Gazzinelli. 1998. Regulation and Function of T-Cell-Mediated Immunity during *T. gondii* Infection. Clin. Microbiol. Rev. 11(4): 569–588.
24. Dubey, J.P. 1994. Toxoplasmosis. J Am Vet Med Assoc. 1;205(11):1593-1598
25. Dubey, JP. 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet. Parasitol. 106:121-153.
26. Dubey J.P.; S.P. Sharma; C.W.G. Lopes; J.F. Williams; S.E. Weisbrod. 1980. Caprine toxoplasmosis: abortion, clinical signs and distribution of *Toxoplasma* in tissues of goats fed *T. gondii* oocysts..Am. J. Vet. Res., 41, 1072-1076
27. Dubey, J.P.; D. S. Lindsay; C. A. Speer. 1998. Structures of *T. gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. Clin. Microbiol. Rev. 11(2): 267–299
28. Dubey, JP.; M. Lappin. 2000. Toxoplasmosis y neosporosis. En: Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2da. Edicion. P. 493-503. C. Green (ed.). Edit. Mc Graw-Hill Interamericana. México.

29. Dubey, JP.; HR. Gamble; D. Hill; C. Sreekumar; S. Romand; P. Thuilliez. 2002. High prevalence of viable *T. gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. J. Parasitol. 88(6):1234-1238.
30. Dubey, JP.; SM. Mitchell; JK. Morrow; JC. Rhyhan; LM. Stewart; DE. Granstrom; S. Romand; P. Thulliez; WJ. Saville; DS. Lindsay. 2003. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *T. gondii* in wild horses from central Wyoming. J. Parasitol. 89(4):716-720.
31. Esponda, R.; P. Avalos; C. Huanco; Y. Huaco. 2004. Situación de los Camélidos Sudamericanos en el Perú. En: Camélidos sudamericanos. Bases para un programa macro regional de ciencia, tecnología e innovación. Cap. 1. p 13-32. V. Carranza (ed). P CONACS. Lima.
32. Figliuolo, LP.; N. Kasai; AM Ragozo; VS Paula; RA Dias; SL Souza; SM Gennari. 2004. Prevalence of anti-*T. gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovina from Sao Paulo State, Brazil. Vet. Parasitol. 123(3-4):161-166.
33. García, M.; A. Chávez; E. Casas; D. Díaz; J. Avendaño; B. Capos; F. Loayza. 2003. Estudio de la Zoonosis Parasitarias de Localización Ocular en el Instituto de Oftalmología (INO). . Rev. Inv. Vet. Perú. 13(2):78-83.
34. Gómez, O.; A. Chávez; E. Casas; E. Serrano; O. Cárdenas. 2003. Determinacion de la seroprevalencia de toxoplasmosis en alpacas y llamas en la estacion experimental INIA-Puno. Rev. Inv. Vet. Perú. 14(1):49-53.
35. Góngora, M. 1992. Prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en las comunidades alpaqueras de Vilcallamas, Bajo Llallagua, Huanacayama y Llusta. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Univ. Nacional del Altiplano, Puno. 47 p.

36. Gorman, T.; JP. Arancibia; M. Lorca; D. Hird; H. Alcaíno. 1999. Seroprevalence of *T. gondii* infection in sheep and alpacas (*Lama pacos*) in Chile. Prev. Vet. Med. 10(3-4):143-149.
37. Gupta, GD.; J. Lakritz; JH. Kim; DY. Kim; JK. Kim; AE. Marsh. 2002. Seroprevalence of Neospora, *T. gondii* and Sarcocystis neurona antibodies in horses from Jeju island, South Korea. Vet. Parasitol. 106(3): 193-201.
38. Hartley, E.; S.C. Marshall. 1967. Toxoplasmosis as a cause of ovine perinatal mortality. N.Z. Vet. J. 5:119-129.
39. Hartley, WJ.; JP. Dubey. 1991. Fatal toxoplasmosis in some native Australian birds. J. Vet Diag. Inv. 3: 167-169.
40. Hoces, D. 1992. Perú. En: Camélidos silvestres sudamericanos. Un plan de acción para su conservación. Cap. 5. p 51-54. H. Torres (ed.) UICN/CSE. Grupo especialista en camélidos sudamericanos. Suiza.
41. Hoces, D. 1998. Estado actual y perspectivas del Mercado de fibra de vicuña. En: Anales del seminario manejo sustentable de la vicuña y el guanaco. p 223-232. B. Gonzáles, F. Bas, C. Tala (eds.) Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago de Chile.
42. Hofmann, R.; K. Otte. 1983. Manejo de la vicuña silvestre. Tomo I y II. Sociedad Alemana de cooperación Técnica Ltda. (GTZ). Alemania.
43. Innes, EA.; MI. Esteban-Redondo. 1997. Diagnóstico. En: Tratado de Patología y Producción Ovina. Cap. 3. L. Ortega (ed). Ed. Luzan. Madrid.

44. INRENA-MINAG. 1994. Evaluación poblacional de vicuñas a nivel nacional. p 3-27. MINAG Lima.
45. Jeannel, D.; G. Niel; D. Costagliola; M. Danis; BM. Traore; M. Gentilini. 1988. Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant women in the Paris area. *Int. J. Epidemiol.* 17(3):595-602.
46. Jenum, PA.; B. Stray-Pedersen; KK. Melby; G. Kapperud; A. Whitelaw; A. Eskild; J. Eng. 1998. Incidence of *Toxoplasma gondii* infection in 35 940 pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. *J. Clin. Microbiol.* 36(10):2900-2906.
47. Kikuchi, Y.; B. Chomel; R. Kasten; J. Martenson; P. Swift; S. O'Brien. 2004. Seroprevalence of *T. gondii* in American free-ranging or captive pumas (*Felis concolor*) and bobcats (*Lynx rufus*). *Vet. Parasitol.* 120:1-9.
48. Lebech, M.; SO. Larsen; E. Petersen. 1995. Occurrence of toxoplasmosis in pregnant women in Denmark. A study of 5,402 pregnant women. *Ugeskr Laeger.* 157(38):5242-5245.
49. Lee, YH.; DW. Shin; LIH. Kasper. 2000. Sequential analysis of cell differentials and IFN- α production of splenocytes from mice infected with *T. gondii*. *The Korean Journal of Parasitology.* 38(2): 85-90.
50. Leguía, G. 1996. Enfermedades Parasitarias de Perros y Gatos. *Epidemiología y Control.* Editorial De Mar. Lima- Perú. 114- 119 p.
51. Leguía, G.; H. Samamé; C. Guerrero; M. Rojas; A. Nuñez. 1987. Prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* el alpacas. *Rev. Cienc. Vet.* 3: 19-21.

52. López-Castillo, CA.; J. Díaz-Ramírez; J. Gómez-Marín. 2005. Factores de riesgo en mujeres embarazadas, infectadas por *T. gondii* en Armenia-Colombia. Rev. Salud pública. 7(2): 180-190
53. Luzon, M.; A. Quintanilla-Gozalo. 1997. Etiología y Biología. En: Tratado de Patología y Producción Ovina. Cap. 1. L. Ortega (ed). Ed. Luzan. Madrid.
54. Luzón-Peña, M.; M. Cordero del Campillo. 1999. Toxoplasmosis. En: Parasitología Veterinaria. M. Cordero del Campillo; F. Rojo Vasquez. (eds). p 484-485. Ed. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid.
55. Marcas, G.; A. Chávez; E. Casas; W. García; N. Falcón. 2004. Seroprevalencia de *T. gondii* en llamas de dos fundos ganaderos de la provincia de Melgar, Puno. Rev. investig. vet. Perú 15(1):44-48.
56. Martín-Hernández, I.; S. García-Izquierdo. 2003. Toxoplasmosis en el hombre. BIOQUIMIA VOL. 28 (3): 19-27.
57. Martínez-Fernández, AR.; A. Muro-Álvarez; F. Simón-Martín. 1999. Diagnóstico de las parásitosis. En: Parasitología Veterinaria. M. Cordero del Campillo; F. Rojo. (eds). p 165-171. Ed. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid.
58. Masala, G.; R. Portu; L. Madau; A. Tanda; B. Ibba; G. Satta; S. Tola. 2003. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. Vet. Parasitol. 117(1-2):15-21.
59. Miró-Corrales, G.; M. Cordero del Campillo. 1999. Toxoplasmosis, neosporosis, encefalitozoonosis. En: Parasitología Veterinaria. M. Cordero

- del Campillo; F. Rojo. (eds). p 665-668. Ed. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid.
60. Miro, G.; A. Montoya; S. Jiménez; C. Frisuelos; M. Mateo; I. Fuentes. 2004. Prevalence of antibodies to *T. gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. *Vet. Parasitol.* 126(3):249-255.
61. Muñoz, E. 2005. Frecuencia de anticuerpos contra *T. gondii* en monos *Cebus apella* criados en cautiverio. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 69 p.
62. Neyer, LE.; G. Grunig; M. Fort; JS. Remington; D. Rennick; CA. Hunter. 1997. Role of Interleukin-10 in Regulation of T-Cell-Dependent and T-Cell-Independent Mechanisms of Resistance to *T. gondii*. *Infect. Immun.* 65(5):1675-1682.
63. Packham, A. E.; K. W. Sverlow; P. A. Conrad; E. F. Loomis; J. D. Rowe; M. L. Anderson; A. E. Marsh; C. Cray; B. C. Barr. 1998. A modified Agglutination Test for *N. caninum*: Development, Optimization and Comparison to the Indirect Fluorescent-Antibody Test and Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 5 (4): 467 – 473.
64. Pastor, J.; A. Chávez; E. Casas; E. Serrano. 2003. Seroprevalencia de *T. gondii* en vicuñas de Puno. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 14(1):79-82.
65. Patitucci, AN.; MR. Alley; BR. Jones; WA. Charleston. 1997. Protozoal encephalomyelitis of dogs involving *Neospora caninum* and *T. gondii* in New Zealand. *N Z Vet. J.* 45(6):231-235.
66. Pereira-Bueno, J.; A. Quintanilla-Gozalo; V. Perez-Perez; G. Alvarez-García; E. Collantes-Fernández; LM. Ortega-Mora. 2004. Evaluation of

- ovine abortion associated with *T. gondii* in Spain by different diagnosis techniques. Vet. Parasitol. 121 (1-2):33-43.
67. Pérez, C. 2000. Técnicas de muestreo estadístico. Editorial Alfa Omega. P. 223-232. México.
68. Pfohl, J.; C. Dewey. 2005. Intracranial *T. gondii* granuloma in a cat. Journal of Feline Medicine and Surgery (en prensa).
69. Pizzi, HL.; C. Rico; O. Pessat. 1978. Hallazgo del ciclo ontogénico selvático del *T. gondii* en félidos salvajes (*Oncifelis geoffroyi*, *Felis colocolo* y *Felis eira*) de la provincia de Córdova. Rev. Mil. Vet. 25:293-300.
70. Poma, E. 2003. Seroprevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en alpacas (*Lama pacos*) de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 69 p. (en prensa)
71. Powell, C.; M. Brewer; M. Lappin. 2001. Detection of *T. gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. Vet. Parasitol. 102:29-33.
72. Ramírez, J. 2005. Seroprevalencia de *T. gondii* en alpacas de la provincia de Canchis-Cusco. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 67 p.
73. Ramos Silva, J.; S. Ogassawara; C. Harumi Adania; F. Ferreira; S. Gennari; JP. Dubey; J. Ferreira-Neto. 2001. Seroprevalence of *T. gondii* in captive neotropical felids from Brazil. Vet. Parasitol. 102:217-224.
74. Rojas, M. 1990. Parasitismo de los rumiantes domésticos. Terapia y prevención y modelos para su aprendizaje. p 326-332. Edit. Maijosa. Lima

75. Rojas, M.; I. Lobato; C. Montalvo. 1989. Prevalencia de *T. gondii* en Camélidos Sudamericanos. Resumen 12va Reunión Cient. Anual del APPA-Perú. 97 p.
76. Ruíz, A.; M. Chinchilla; O. Guerrero. 2005. Patología en pollos inoculados con diferentes concentraciones de ooquistes de *T. gondii*. Parasitol. Latinoam. 60:43-47.
77. Saavedra, GM.; YR. Ortega. 2004. Seroprevalence of *T. gondii* in swine from slaughterhouses in Lima, Peru, and Georgia, U.S.A. J. Parasitol. 90(4):902-904.
78. Saravia, M.; A. Chávez; E. Casas; N. Falcón; W. Pinto. 2004. Seroprevalencia de *T. gondii* en llamas de una empresa pecuaria en Melgar, Puno. Rev. Inv. Vet. Perú. 15(1):49-55.
79. Simpson, K.; B. Devine; D. Gunn-Moore. 2005. Suspected toxoplasma e associated myocarditis in a cat. Journal of Feline Medicine and Surgery. 7: 203-208.
80. Singh, S.; AJ. Pandit. 2004. Incidence and prevalence of toxoplasmosis in Indian pregnant women: a prospective study. Am. J. Reprod. Immunol. 52(4):276-283.
81. Skjerve, E.; H. Waldeland; T. Nesbakken; G. Kapperud. 1998. Risk factors for the presence of antibodies to *T. gondii* in Norwegian slaughter lambs. Prev. Vet. Med. 35(3):219-227.
82. Sørensen, KK.; T. Mørk; O.G. Sigurðardóttir; K. Asbakk; J. Akerstedt; B. Bergsjø; E. Fuglei. 2005. Acute toxoplasmosis in three wild arctic foxes

- (*Alopex lagopus*) from Svalbard; one with co-infections of *Salmonella* Enteritidis PT1 and *Yersinia pseudotuberculosis* serotype 2b. *Research in Veterinary Science* 78: 161–167
83. Soulsby, E. 1987. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7ma. Ed. p 681-693. Edit. Interamericana. México.
84. Suárez, F.; W. Flores; A. Chávez; H. Rivera; W. Huanca. 2004. Toxoplasmosis en alpacas de la sierra altoandina. *Rev. Inv. Vet. Perú*. 15(2):170-173.
85. Svobodová, V.; Z. Knotek; M. Svoboda. 1998. Prevalence of IgG and IgM antibodies specific to *T. gondii* in cats. *Vet. Parasitol.* 80(2):173-176
86. Thrusfield, M. 1990. *Epidemiología veterinaria*. p. 228-230. Ed. Acribia. España.
87. Tizard, I. 1995. *Inmunología Veterinaria*. 4ª. Ed. p. 238-239. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México.
88. Torres, H. 1992. Antecedentes, objetivos y limitaciones del plan. En: *Camélidos silvestres sudamericanos. Un plan de acción para su conservación*. Cap. 1. p 32-36. H. Torres (ed). UICN/CSE. Grupo especialista en camélidos sudamericanos. Suiza.
89. Vidal, L. 1999. Prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en cabras de la provincia de Lima. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 41 p.

90. Vikøren, T.; J. Tharaldsen; B. Fredriksen; K. Handeland. 2004. Prevalence of *T. gondii* antibodies in wild red deer, roe deer, moose, and reindeer from Norway. *Vet. Parasitol.* 120:159-169.
91. Vitaliano, SN.; D.A.O. Silva; T.W.P. Mineo; R.A. Ferreira; E. Bevilacqua; J.R. Mineo. 2004. Seroprevalence of *T. gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and Midwestern regions of Brazil. *Vet. Parasitol.* 122:253-260.
92. Wanha, K.; R. Edelhofer; C. Gabler-Eduardo; H. Prosl. 2005. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *T. gondii* in dogs and foxes in Austria. *Vet. Parasitol.* 128(3-4):189-193.
93. Wheeler, J. 1991. Origen, evolución y status actual. En: Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Cap. 1. S. Fernández-Baca (ed). Ed. FAO. Santiago de Chile.
94. Zuñiga, M. 1998. Manual calendarizado de actividades para el manejo de vicuñas. p 8-14. Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos (CONACS). Programa de Camélidos Silvestres. Lima-Perú.